

C.N.R.S
A.o. 13207

UNIVERSITE DE NANCY - I -
ET
INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE
DE
LORRAINE

+ = + = + = +

T H E S E

Présentée pour l'obtention du titre
de
DOCTEUR - INGENIEUR
par
M. Yves DEMARNE

+ = + = + = +

SUJET : Influence de la flore du tractus digestif sur les mécanismes de digestion
et d'absorption des lipides alimentaires. Contribution à l'étude du
phénomène chez le Rat.

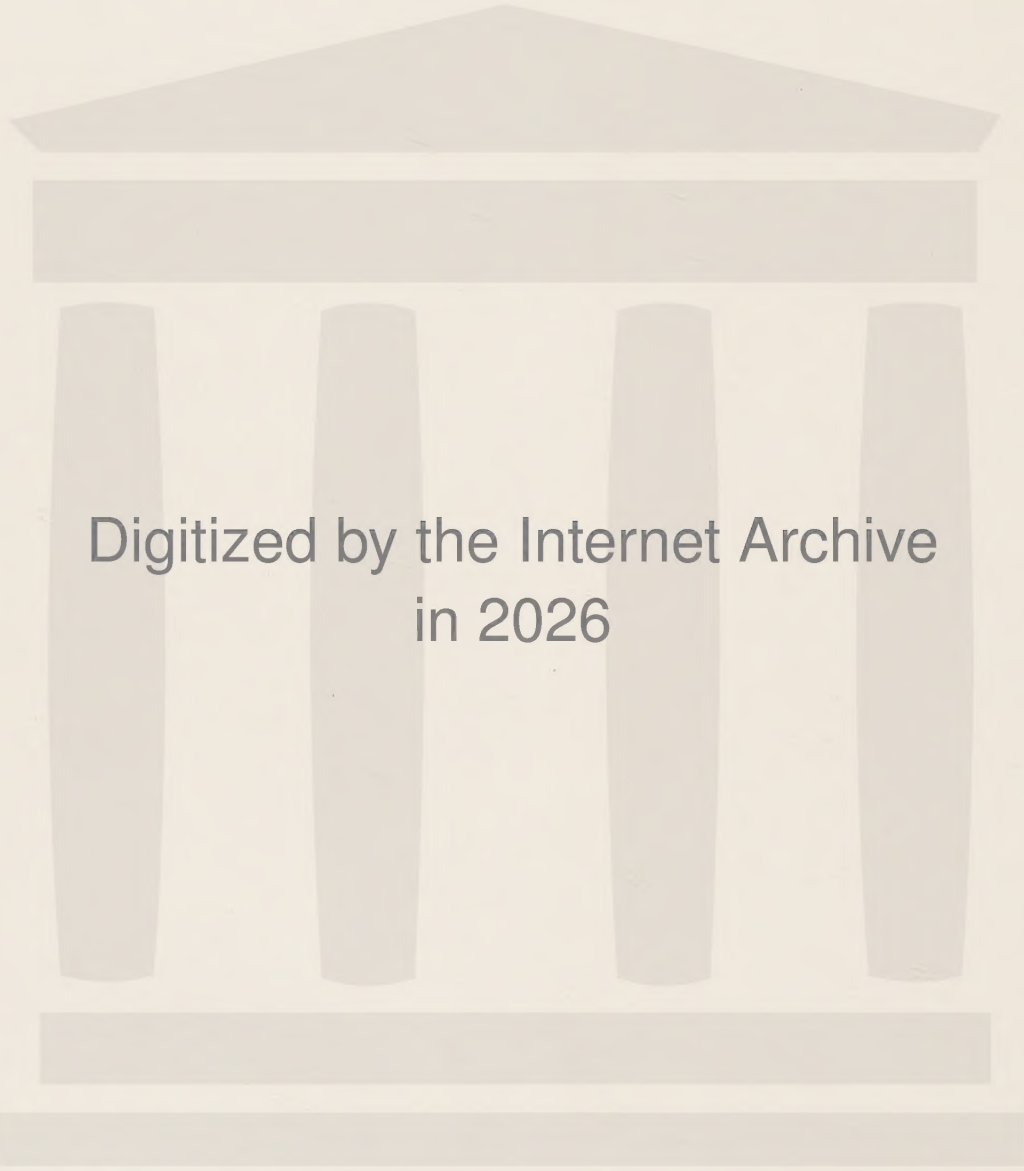
+ = + = + = +

SOUTENUE Le 9 Janvier 1976.

Devant la Commission d'examen composée de :

- | | |
|--------------------|-----------|
| M. A. VEILLET..... | Président |
| M. G. DEBRY | Examineur |
| M. M. METCHE | " |
| M. J. FLANZY | " |
| M. E. SACQUET..... | " |

+ = + = + = +



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555016_0031

UNIVERSITE DE NANCY - I -
ET
INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE
DE
LORRAINE

+ = + = + = +

T H E S E

Présentée pour l'obtention du titre
de
DOCTEUR - INGENIEUR
par

M. Yves DEMARNE

+ = + = + = +

SUJET : Influence de la flore du tractus digestif sur les mécanismes de digestion
et d'absorption des lipides alimentaires. Contribution à l'étude du
phénomène chez le Rat.

+ = + = + = +

SOUTENUE Le 9 Janvier 1976.

Devant la Commission d'examen composée de :

M. A. VEILLET.....	Président
M. G. DEBRY	Examinateur
M. M. METCHE	"
M. J. FLANZY	"
M. E. SACQUET.....	"

+ = + = + = +



"Nous ne régnons nullement sur la nature comme un conquérant règne sur un peuple étranger, comme quelqu'un qui serait en dehors de la nature mais... nous lui appartenons avec notre chair, notre sang, notre cerveau... nous sommes dans son sein... et toute notre domination sur elle réside dans l'avantage que nous avons sur les autres créatures de connaître ses lois et de pouvoir nous en servir judicieusement".

F. ENGELS
La dialectique de la Nature

Ce travail a été réalisé dans le cadre des laboratoires de la Station de Recherches de Nutrition (I.N.R.A.), au Centre National de Recherches Zootechniques à Jouy-en-Josas (78350), et en collaboration étroite avec le Service des Animaux sans Germes du C.N.R.S.

Il a bénéficié d'une aide financière dans le cadre de l'Action Thématique Programmée "Ecophysiologie des Régulations" lancée par le C.N.R.S.

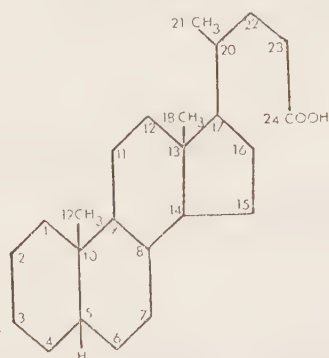
Tableau de correspondance entre la représentation symbolique employée dans le texte et les nomenclatures systématique et usuelle des principaux acides gras.

Symboles	Nomenclature systématique	Nomenclature
C12:0	A. Dodécanoïque	A. Laurique
C14:0	A. Tétradécanoïque	A. Myristique
C16:0	A. Hexadécanoïque	A. Palmitique
C16:1	A. cis-9 Héxadécénoïque	A. Palmitoléique
C18:0	A. Octadécanoïque	A. Stéarique
C18:1	A. cis-9 Octadécénoïque	A. Oléique
C18:2	A. cis-9, cis-12 Octadécadiénoïque	A. Linoléique
C18:3	A. cis-9, cis-12, cis-15 Octadécatriénoïque	A. Linolénique
C20:0	A. Eicosanoïque	A. Arachidique
C22:0	A. Docosanoïque	A. Béhénique
C22:1	A. cis-13 Docosénoïque	A. Erucique

Tableau de correspondance entre les nomenclature
systématique et usuelle des principaux acides
biliaires.

Acide cholique	Acide 3 α 7 α 12 α -trihydroxy	5 β -cholanique *
Acide hyocholique	Acide 3 α 6 α 7 α -trihydroxy	5 β -cholanique
Acide α muricholique	Acide 3 α 6 β 7 α -trihydroxy	5 β -cholanique
Acide β muricholique	Acide 3 α 6 β 7 β -trihydroxy	5 β -cholanique
Acide chénodéoxycholique	Acide 3 α 7 α -dihydroxy	5 β -cholanique
Acide hyodéoxycholique	Acide 3 α 6 α -dihydroxy	5 β -cholanique
Acide ursodéoxycholique	Acide 3 α 7 β -dihydroxy	5 β -cholanique
Acide déoxycholique	Acide 3 α 12 α -dihydroxy	5 β -cholanique
Acide lithocholique	Acide 3 α hydroxy	5 β -cholanique

* La structure de l'acide cholanique est la suivante :



NOMENCLATURE

Terminologie proposée et appliquée aux animaux

par

RAIBAUD et coll. (1966)

- . L'animal Axénique : N'héberge pas de microorganismes.
Vit en milieu protégé de toute contamination.

- . L'animal Gnotoxénique : Héberge une ou plusieurs souches de microorganismes connus (Mono, di, tri xénique et uniquement celles-là).
Vit en milieu protégé de toute contamination.

- . L'animal Hétéroxénique : Héberge une flore bactérienne définie et non pathogène.
Vit dans des conditions de milieu contrôlé du point de vue bactérien.

- . L'animal Holoxénique : Héberge n'importe quels microbes.
Vit dans des locaux conventionnels.

- INTRODUCTION -

INTRODUCTION

A. DONNEES GENERALES CONCERNANT LA DIGESTION ET L'ABSORPTION DES MATIERES GRASSES CHEZ LES MONOGASTRIQUES

1. Digestion au niveau intestinal

Bien que les matières grasses alimentaires subissent une émulsification grossière dans l'estomac, la grande majorité des auteurs s'accorde pour penser que la digestion des lipides ne commence vraiment que dans le duodenum. A ce niveau, les triglycérides, sous forme d'émulsion grossière, se mélangent aux sécrétions biliaire et pancréatique. Grâce à l'action émulsifiante de substances amphiphiles comme les sels biliaires conjugués d'une part, et d'autres lipides polaires comme les phospholipides d'autre part, l'émulsion s'affine jusqu'à l'obtention d'une dispersion dans la phase aqueuse, de particules lipidiques d'un diamètre variant entre 500 et 1000 μ (BORGSTRÖM, 1967).

La lipase pancréatique (EC 3.1.1.3) agit exclusivement sur les triglycérides en émulsion, et à l'interphase huile-eau. Elle attaque spécifiquement les liaisons esters 1 et 3 et les produits de la réaction sont donc des 2-monoglycérides et des acides gras libres (DESNUELLE, 1961 ; ENTRESSANGLES et coll., 1961). Selon MATTSON et VOLPENHEIN (1964) environ 25 p.100 des 2-monoglycérides s'isomérisent en 1-monoglycérides, et environ 75 p.100 de ces derniers pourraient être hydrolysés en glycérol et en acides gras.

Les produits de la réaction enzymatique, principalement des acides gras libres et des 2-monoglycérides, s'associent avec les sels biliaires conjugués pour former des micelles chargées négativement. Le diamètre de ces particules est d'environ 50 Å. Les observations de HOFMANN (1963a) in vitro et d'HOFMANN et BORGSTRÖM (1964) in vivo, confirment ces données.

Il est donc admis que, pendant la digestion intraluminaire des lipides, deux formes physiques coexistent : l'une est une émulsion et l'autre est une dispersion micellaire. La première contient les triglycérides alimentaires et un peu de diglycérides tandis que la seconde contient

les produits de la lipolyse, à savoir des acides gras libres et des 2-mono-glycérides solubilisés avec des sels biliaires conjugués.

2. Pénétration dans la cellule épithéliale

L'état physico-chimique sous lequel se fait le transfert de la lumière de l'intestin à l'intérieur de la cellule absorbante est difficile à étudier par des voies biochimiques ou microscopiques. C'est pourquoi ce point est encore très controversé.

ASWORTH et LAWRENCE (1966) pensent que les micelles seraient d'abord associées à l'enveloppe mucroprotéique des microvillosités puis seraient "relarguées" vers l'intérieur de la cellule sous forme très dispersée, tandis que les sels biliaires conjugués repasseraient dans la lumière intestinale pour n'être résorbés qu'au niveau de l'iléon.

VODOVAR et FLANZY (1966) montrent que l'absorption, chez le Porc, se fait au niveau des espaces intermicrovillieux. Pour y parvenir les particules ne doivent pas excéder 50 Å de diamètre. Les micelles mixtes seraient alors désagrégées. D'après ces auteurs, si l'état micellaire facilite le transfert, l'absorption proprement dite pourrait se faire sous forme moléculaire. Dès le franchissement de la paroi, les molécules se trouveraient déjà dans un réseau de fines canalicules : le reticulum endoplasmique.

3. Remaniements biochimiques au niveau de la cellule épithéliale

Il existe dans la cellule épithéliale de l'intestin grêle une enzyme : l'acyl-coenzyme A synthétase (EC 6.2.1.3) qui est capable de faire passer les acides gras libres absorbés sous forme d'acyl-CoA (CLARK et HOBBSHER, 1960, 1961 ; DAWSON et ISSELBACHER, 1960). L'énergie nécessaire à cette synthèse est fournie par l'hydrolyse d'une molécule d'ATP.

L'étape suivante concerne la synthèse de triglycérides. Deux voies métaboliques sont possibles :

. Voie de l' α -glycéro-phosphate

L' α -glycérophosphate provenant soit de la glycolyse, soit de la phosphorylation du glycérol exogène (SAUNDERS et DAWSON, 1962) est acylé par deux molécules d'acyl Co-A pour former de l'acide phosphatidique. Cet acide est ensuite déphosphorylé et donne un 1, 2-diglycéride qui est, à son tour, acylé par une nouvelle molécule d'acyl-CoA pour former un triglycéride (WEISS et KENNEDY, 1956 ; WEISS et coll., 1960 ; STEIN, TIEZ et SHAPIRO, 1957).

. Voie des 2-monoglycérides exogènes

Les monoglycérides exogènes, principalement les 2-monoglycérides provenant de l'hydrolyse des triglycérides par la lipase pancréatique, sont acylés pour former, dans un premier temps, des 1,2-diglycérides, puis des triglycérides. Deux enzymes interviennent à ce niveau : la monoglycéride transacylase et la diglycéride transacylase (CLARK et HÜBSHER, 1960 ; SENIOR et ISSELBACHER, 1962 ; JOHNSTON et BROWN, 1962 ; RAO et JOHNSTON, 1966).

Les études réalisées in vivo et in vitro suggèrent que, chez les monogastriques tout au moins, la voie de resynthèse des triglycérides la plus importante est la voie des monoglycérides exogènes (SAVARY, CONSTANTIN, DESNUELLE, 1961 ; KERN et BORGSTRÖM, 1965).

Après avoir ^{été} resynthétisés, les triglycérides s'associent avec d'autres lipides (phospholipides, cholestérol et esters du cholestérol) et des protéines synthétisées "in situ" pour former des particules d'un diamètre variant entre 0,5 et 1 μ nommées chylomicrons. Ces lipoprotéines complexes et organisées sont ensuite acheminées vers les espaces intercellulaires puis transférées au système lymphatique. La synthèse concomitante de protéines est absolument nécessaire au transport des lipides absorbés. Les inhibiteurs de la synthèse protéique entraînent irrémédiablement une accumulation de lipides dans la paroi intestinale (ISSELBACHER et BUDZ, 1963 ; SABESIN et ISSELBACHER, 1965).

4. Principaux facteurs faisant varier l'absorption intestinale des matières grasses

Les divers facteurs qui influent sur l'utilisation digestive des matières grasses ont été récemment passés en revue par THIEULIN (1968). Nous nous bornerons à rappeler, dans cette introduction, les principaux facteurs qui peuvent modifier l'absorption des lipides alimentaires.

Le point de fusion de la matière grasse et sa teneur en acides gras insaturés, facteurs qui dépendent l'un de l'autre, influencent la digestibilité. Les matières grasses à bas point de fusion sont généralement mieux absorbées que celles qui présentent une température de fusion élevée.

La nature des acides gras et le fait qu'ils soient estérifiés en position externe ou en position interne sur la molécule de triglycéride interviennent également. Les matières grasses les plus riches en acides gras à chaîne longue et saturée ($\geq C16$) sont moins bien absorbées que les autres. Les huiles contenant de fortes proportions d'acides gras insaturés à chaîne très longue (acide érucique de l'huile de colza par exemple) sont moins bien absorbées que les huiles qui n'en contiennent pas.

L'utilisation digestive apparente des acides gras qui entrent dans la composition d'une matière grasse donnée n'est pas un critère constant. Il varie selon :

- la nature de la fonction alcool du glycérol que l'acide gras estérifie (position externe et interne) ;
- la composition en acides gras du mélange dans lequel il se trouve.

Ainsi, l'acide palmitique du saindoux, en majeure partie estérifié en position interne dans la molécule de triglycéride, est mieux absorbé que celui du suif où il occupe surtout les positions externes. L'utilisation digestive de l'acide palmitique s'améliore au fur et à mesure que la teneur en acide oléique dans la matière grasse ingérée augmente.

Les cations bivalents, et notamment les ions Ca^{++} jouent un rôle très important. Plusieurs auteurs ont mis en évidence la présence d'une grande quantité de savons insolubles dans les fèces. Cette quantité varie avec le type de matière grasse ingérée, et c'est avec les graisses les plus riches en acides gras saturés que l'on observe les plus fortes excrétions de savons de ce type. Cette précipitation sélective des acides gras saturés pourrait, en partie, expliquer la mauvaise absorption de ces molécules.

B. INFLUENCE DE LA FLORE GASTRO-INTESTINALE SUR LA DIGESTION ET L'ABSORPTION DES MATIERES GRASSES

1. Cas des polygastriques

On commence à bien connaître les mécanismes de la digestion des matières grasses chez les ruminants. La physiologie particulière de la digestion chez ces animaux est due à la présence d'un estomac complexe où tous les nutriments subissent des remaniements importants. Le rôle qui y est joué par la flore et la faune microbiennes est fondamental pour l'assimilation des matériaux alimentaires ingérés. Les matières grasses n'échappent pas à la règle et subissent, en particulier dans le rumen, des transformations importantes dont nous allons voir les détails.

a) Hydrolyse des glycérides

A la différence des monogastriques chez qui la lipolyse des triglycérides ingérés se produit principalement au niveau duodénal, les polygastriques se révèlent capables d'hydrolyser totalement les glycérides au niveau stomacal. C'est le travail de GARTON et LOUGH (1958) qui démontre

pour la première fois une lipolyse au niveau du rumen chez le Mouton. En effet, *in vitro*, le jus de rumen se révèle capable de libérer 90 p.100 des acides gras estérifiés dans des triglycérides naturels. Cette lipolyse ne se produit plus lorsque le contenu du rumen a été bouilli au préalable, et la salive de l'animal ne présente aucune activité lipolytique.

Cependant, l'efficacité de la lipolyse varie selon les substrats testés. Si les liaisons entre acides gras et glycérol sont rompues à 95 p.100 dans le cas de l'huile de lin, celles de l'huile d'olive ne le sont qu'à 68 p.100 et celles du beurre de cacao à 40 p.100 (GARTON, LOUGH et VIOQUE, 1959-1961). De plus, l'analyse des lipides du rumen ne permet pas de mettre en évidence des mono et des diglycérides. La lipolyse au niveau de l'estomac des ruminants semble être totale. Ceci a été confirmé en 1961 par GARTON, MOREHOUSE et LOUGH, et semble donc caractériser la lipolyse chez les polygastriques, puisqu'à la différence de la lipolyse sous l'action de la lipase pancréatique chez les monogastriques, toutes les liaisons esters des triglycérides sont rompues dans ce cas.

L'origine microbienne de la lipolyse a été démontrée par HOBSON et MANN en 1961. Ces auteurs réussissent à isoler, à partir du contenu de rumen une bactérie gram-négatif capable d'hydrolyser "*in vitro*" les triglycérides en glycérol et acides gras. HUNGATE (1966) propose, pour cette bactérie, le nom d'Anaerovibrio lipolitica. Les acides gras libérés s'accumulent dans le milieu, les bactéries ne les utilisent donc pas à des fins métaboliques.

En plus de l'hydrolyse des triglycérides, les microorganismes du rumen peuvent également hydrolyser les phospholipides (DAWSON, 1959). Ils peuvent donner, à partir des lécithines et des lysolécithines des acides gras libres et de la glycérophosphorylcholine. Cette dernière pourrait aussi être hydrolysée.

En dehors des triglycérides, les lipides des graminées contiennent une forte proportion de galactoglycérides (WEENINCK, 1959 ; GARTON, 1960). L'hydrolyse par les microorganismes de cette catégorie de lipides ne semble pas avoir été particulièrement étudiée, mais compte tenu du fait que le jus de rumen des animaux nourris à l'herbe contient une très forte proportion d'acides gras libres, on peut penser que pour ces glycérides particuliers l'hydrolyse est totale. C'est d'ailleurs ce que pensent GARTON et LOUGH (1963). Pour ces auteurs, l'hydrolyse est totale, et le galactose est transformé en acides gras volatils. Le glycérol qui est libéré est fermenté en acide propionique par Veillonella alcalescens (JOHNS, 1953), et d'autres

bactéries appartenant aux genres Selenomonas, Anaerovibrio, et Peptostreptococcus (HOBSON et MANN, 1961). Ces auteurs rapportent que dans les produits de la fermentation du glycérol, on peut noter, en plus de l'acide propionique, l'acide lactique et l'acide succinique.

On voit donc que l'hydrolyse des triglycérides se produit au niveau stomacal chez les ruminants et qu'elle est totalement sous la dépendance des microorganismes du rumen. De plus, à la différence des animaux monogastriques, les produits de l'hydrolyse des triglycérides sont du glycérol et des acides gras libres qui arrivent sous cette forme au niveau du duodenum. DAWSON (1970) souligne que cette digestion totale des triglycérides pose un certain nombre de questions. En effet, chez les monogastriques, les triglycérides sont hydrolysés en acides gras et en 2-monoglycérides. Ces derniers jouent un rôle important dans la solubilisation micellaire des produits de la digestion, en formant des micelles mixtes avec les sels biliaires. Or, ces 2-monoglycérides sont totalement absents dans l'intestin du mouton (LEAT et HARRISON, 1967). Pourtant, les ruminants absorbent les matières grasses. Il semble donc que la solubilisation des acides gras issus de la digestion des triglycérides s'opère d'une autre façon. On observe, en effet, qu'en absence de suc pancréatique, l'absorption des matières grasses est fortement abaissée et HARRISON et LEAT (1970, 1972) émettent une hypothèse selon laquelle le rôle majeur des enzymes pancréatiques dans la digestion des matières grasses chez les ruminants, serait non pas d'agir sur les glycérides alimentaires, mais de transformer les lécithines d'origine biliaire en lysolécithine. Ces dernières assureraient, avec les sels biliaires conjugués, une solubilisation micellaire des acides gras au moins aussi efficace que celle obtenue avec les 2-monoglycérides.

b) Biohydrogénation des acides gras insaturés

On sait que la composition en acides gras des dépôts adipeux des mammifères monogastriques, herbivores ou non, est fortement influencée par la composition en acides gras des matières grasses de la ration. Ceci a été vérifié chez le Porc, le Rat, le Cheval et le Lapin (FRANCOIS et FLANZY, 1959). Il en est de même chez les oiseaux et les poissons herbivores (CRUICKSHANK, 1934 ; GREEN et HILDITCH, 1936).

Au contraire, la composition en acides gras du tissu adipeux des Ruminants adultes n'est pas ou peu affectée par la nature des acides gras ingérés. Compte tenu de la richesse en acides gras polyinsaturés des matières grasses de l'herbe (en général plus de 80 p.100 des acides gras totaux), on pourrait s'attendre à obtenir des tissus adipeux très insaturés

donc mous. Il n'en est rien, et le suif se caractérise par sa richesse en acides saturés (principalement palmitique et stéarique) et en acides mono-insaturés (principalement oléique). Un apport important d'acides gras poly-insaturés ne modifie pas leur concentration dans le tissu adipeux (THOMAS et coll., 1934 ; SHORLAND, 1955). En revanche, chez le Veau, dont le rumen n'est pas fonctionnel et qui se comporte sur le plan digestif comme un monogastrique, lorsque l'aliment d'allaitement est fortement enrichi en acides gras polyinsaturés (acide linoléique et acide linolénique), on observe une augmentation importante de la concentration en acides gras de ce type dans le tissu adipeux (HOFLUND, et coll., 1956).

La première hypothèse pour expliquer la teneur anormale en acides gras saturés dans les tissus adipeux des ruminants adultes paraît être celle de BANKS et HILDITCH en 1931. Ces auteurs pensaient à une biohydrogénation enzymatique, *in situ*, dans le tissu adipeux. A l'heure actuelle, cette hypothèse semble être abandonnée.

Les phénomènes d'hydrogénation des acides gras polyinsaturés alimentaires paraissent être liés à la présence d'un rumen fonctionnel, donc contenant une flore et une faune active. C'est REISER (1951) qui a mis directement en évidence l'action du rumen dans les phénomènes de saturation des matières grasses. En faisant incuber *in vitro* de l'huile de lin (plus de 50 p.100 d'acide linolénique) avec du contenu de rumen de mouton, on observe une rapide diminution de la teneur en acide linolénique (C18:3) du milieu et une augmentation parallèle de la teneur en acide linoléique (C18:2). Depuis, ces résultats ont été confirmés par divers auteurs et dans différentes espèces (SHORLAND et coll., 1955, 1957 ; HOFLUND et coll., 1955, 1956 ; GARTON et coll. 1958 ; WOOD et coll., 1963 ; REISER et REDDY, 1956).

On sait que l'injection intraduodénale régulière d'huile de lin augmente la teneur en acides gras polyinsaturés du tissu adipeux de ruminant adulte (OGIVILIE et coll., 1961). De plus, chez la Vache laitière, HOFLUND et coll. (1955) montrent, grâce à l'emploi de molécules d'acides gras marqués au carbone 14, que les acides gras insaturés de la ration sont hydrogénés avant d'être excrétés dans le lait. Ceci est confirmé par les résultats de TOVE et MOCHRIE (1963) qui montrent que l'injection d'huile de coton par voie intraveineuse entraîne une augmentation de la teneur en acide linoléique du lait alors que ceci ne se produit pas lorsque l'acide linoléique est absorbé dans la ration.

Toutes ces observations tendent donc à démontrer que le rumen est le seul responsable de ces phénomènes de saturation. Les mécanismes de la biohydrogénation sont actuellement en voie d'être totalement reconnus. Les bactéries et les protozoaires jouent un rôle qui paraît être d'une égale importance dans ces phénomènes.

HOF LUND et coll. (1956) étudient l'influence des diverses catégories de microorganismes du rumen chez le Mouton porteur d'une fistule du rumen. Grâce à un apport important de chlorate de potassium, il essaie d'éliminer la plus grande partie des protozoaires et observe que la saturation des acides gras de l'huile de lin est plus faible qu'en temps normal. Ils reprennent l'expérience avec un fongicide et n'observe, cette fois, qu'une très faible diminution de la saturation des acides polyinsaturés. L'auteur estime que les protozoaires jouent un rôle prépondérant, et que les bactéries et les champignons interviennent plus faiblement. Un peu plus tard, WRIGHT, en 1959, démontre qu'une suspension de ciliés provenant du rumen d'une vache fistulée est capable de biohydrogéner des acides gras insaturés. Les enzymes responsables paraissent avoir une affinité plus grande pour les triènes et les monoènes que pour les diènes. GUTIERREZ et coll. (1962) et WILLIAMS, GUTIERREZ et DAVIS (1963) ont isolé deux espèces du genre *Isotricha* qui sont capables de biohydrogéner l'acide oléique en acide stéarique. Enfin, pour CHALUPA et KUTCHES (1968), seuls les protozoaires oligotriques sont capables de transformer les monoènes en acides gras saturés.

Le rôle des bactéries du rumen dans les phénomènes de saturation est, cependant, loin d'être négligeable. WRIGHT rapporte, en 1960, que les bactéries du rumen incubées dans un tampon phosphate ne biohydrogènent qu'une faible proportion d'acides gras insaturés provenant de chloroplastes, mais que, par contre, en suspension dans du liquide de rumen, ellesaturent presque tous les acides gras.

La première souche bactérienne à action saturante isolée est *Butyrovibrio fibriosolvens* (POLAN, MacNEILL et TOVE, 1964). Cette bactérie se révèle capable de biohydrogéner l'acide linoléique comme l'acide linoléique. Depuis, d'autres bactéries présentant des propriétés identiques ont été isolées (WILDE et DAWSON, 1966 ; KEMP et WHITE, 1968). Cependant, jusqu'à une période très récente, on pensait que les bactéries pouvaient transformer les acides gras tri-insaturés en diènes et en monoènes, mais ne pouvaient pas assurer le passage du monoène à l'acide gras saturé. Seul *E. coli* se révélait capable de le faire, mais avec un rendement très faible

(WILDE et DAWSON, 1966). On pensait que cette ultime étape de la biohydrogénation était le fait des protozoaires. A l'heure actuelle, on sait qu'il n'en est rien et que des bactéries peuvent assurer cette transformation (DAWSON et KEMP, 1969). WHITE, KEMP et DAWSON (1970) ont réussi à isoler une bactérie de ce type.

Les étapes de la biohydrogénation des acides gras polyinsaturés par certaines bactéries du rumen sont maintenant connues. On sait que la première étape est une isomérisation cis-trans avec migration de la double liaison en position 12. Partant de l'acide linoléique (cis, cis, cis octadeca 9, 12, 15 triénoïque) on passe à l'acide 9cis, 11 trans, 15cis octadeca triénoïque (WILDE, DAWSON, 1966 ; KEMP et DAWSON, 1968). Partant de l'acide linoléique (9cis, 12cis, octadeca diénoïque) on passe à l'acide 9cis, 11 trans octadeca diénoïque. On obtient donc des acides gras avec deux doubles liaisons 9cis, 11 trans, qui vont subir, suivant qu'ils ont deux ou trois doubles liaisons, une ou deux biohydrogénations. La double liaison trans en position 11 est épargnée, et on aboutit à l'acide 11 trans, octadecanoïque. In vitro, avec les souches testées, il n'a pas été possible d'observer une biohydrogénation totale jusqu'à l'acide octadécanoïque ou stéarique (WILDE, DAWSON, 1966 ; KEMP et DAWSON, 1968).

La mise en évidence in vitro de ces intermédiaires est complétée par diverses observations in vivo.

HARTMAN, SHORLAND et MacDONALD (1954) trouvent, dans le rumen de mouton au pâturage, 9 p.100 d'acides gras trans alors qu'il n'en existe pas dans l'herbe. D'autre part, dès 1957, SHORLAND et coll., notent que le pourcentage d'acides gras insaturés de forme trans dans le rumen varie en fonction du degré d'insaturation de l'acide gras fourni. Ainsi, avec de l'acide oléique, 17,2 p.100 de la dose se retrouve sous forme trans dans le rumen contre, respectivement, 47,9 et 87,3 p.100 dans le cas de l'acide linoléique et linoléique. De plus, SHORLAND et coll. (1957), WEENINK (1956) GARTON (1954) constatent la présence d'acides gras à doubles liaisons conjuguées dans les contenus du rumen et les lipides corporels.

Enfin, il est à signaler que les graisses de ruminants, qui sont des graisses animales très saturées, se caractérisent aussi par leur richesse relative en acides gras monoénoïques à double liaison de forme trans. HARTMAN et al., (1955, 1958), SMITH (1961) rapportent que 3,5 à 11 p.100 des acides gras des dépôts présentent des doubles liaisons de forme trans alors que le taux ne dépasse pas 1 p.100 dans le cas des autres animaux. Ceci semble montrer qu'après avoir subi l'isomérisation cis-trans, tous les acides

gras ne sont pas hydrogénés jusqu'au stade ultime de l'acide stéarique. La flore du caecum et du colon du mouton est également capable d'hydrogéner l'acide linoléique. Elle le transforme en un monoène de forme trans (WARD, SCOTT, DAWSON, 1964).

2. Cas des monogastriques

a) Quelques faits expérimentaux

Vers 1960, différents auteurs, tels que AFIFI (1959) et SUPPLEE (1960), rapportent des résultats enregistrés avec le Poulet, qui semblent démontrer que l'apport d'antibiotiques dans la ration a une influence directe sur l'absorption de matières grasses telles que l'huile de maïs. YOUNG, GARRETT et GRIFFITH (1963) montrent que la supplémentation en antibiotiques et l'état sanitaire des locaux d'élevage influencent directement l'absorption des acides gras. Ces auteurs rapportent, tout d'abord, que le simple fait de fumigérer le local d'élevage, en particulier avec du permanganate de potassium et du formaldéhyde, augmente l'utilisation digestive des acides gras du saindoux qui passe de 73 à 77 p.100. D'autre part, un apport de 50 ppm de pénicilline, associé à 50 ppm de bacitracine et 50 ppm de chlortétracycline, fait passer la digestibilité apparente de 73 à 75 p.100. En combinant les deux systèmes, la digestibilité passe à 81 p.100.

Les premières études réalisées avec des animaux axéniques débutent à la même époque. LUCKEY (1963) note une faible augmentation de la digestibilité apparente de l'huile de maïs incorporée à 6,8 p.100 dans la ration. Le coefficient d'utilisation digestive apparent (C.U.D.a) est de 96,8 p.100 chez le Rat axénique et de 94,6 p.100 chez le Rat holoxénique (conventionnel).

Ces résultats sont confirmés depuis par divers auteurs chez différentes espèces. EVRARD et coll. (1964, 1965) montrent que, lorsque l'on fournit à des Rats axéniques et holoxéniques un régime contenant 6 p.100 d'huile de maïs, les Rats axéniques excrètent 1,93 mg de graisse par gramme d'aliment ingéré, alors que les Rats holoxéniques en excrètent 2,74 mg. Chez le Lapin, YOSHIDA et coll. (1958) rapportent des résultats du même ordre. Le Lapin axénique recevant une ration à 5 p.100 d'huile de maïs, absorbe cette matière grasse à 93,4 p.100, alors que le Lapin holoxénique n'en absorbe que 89,5 p.100. Chez le Poulet, BOYD et EDWARDS (1967) démontrent qu'il en est de même. Cependant, ces auteurs sont les premiers à montrer que l'influence de la flore est différente selon le degré de saturation de la matière grasse ingérée. Ainsi, chez les poulets recevant un régime contenant 6 p.100

d'huile de maïs, la digestibilité de cette huile est de 87,6 p.100 chez les axéniques et de 85,6 p.100 chez les holoxéniques. En cas d'ingestion d'une ration à 6 p.100 de suif (matière grasse très riche en acides gras saturés), l'utilisation digestive apparente, qui est de 75 p.100 chez l'animal holoxénique, est de 85,1 p.100 chez l'animal axénique. L'influence de la flore se fait donc sentir davantage sur ce type de matière grasse. D'ailleurs, quand ces mêmes auteurs étudient l'utilisation digestive de chacun des acides gras entrant dans la composition de ces graisses, ils notent bien une augmentation spécifique de l'absorption apparente des acides saturés en C16 et C18. Celle de l'acide oléique n'est pas ou est peu affectée, et ceci est confirmé chez le Rat par TENNANT et coll. (1969).

En 1967, COLE Jr., et BOYD réalisent des études d'utilisation digestive chez le Poulet gnotoxénique et montrent que deux souches bactériennes sont capables, par leur simple présence dans le tractus digestif de l'animal précédemment axénique, de faire diminuer l'absorption des acides palmitique et stéarique. Il s'agit de Clostridium Welchii et de Streptococcus faecalis.

L'ensemble de ces résultats expérimentaux paraît donc démontrer que la flore gastro-intestinale influence l'absorption des matières grasses et qu'elle agit d'une façon négative puisqu'elle semble contribuer à l'abaissement du coefficient d'utilisation digestive chez le Rat et le Poulet. Les mécanismes par lesquels la flore peut agir sur ce coefficient ne sont pas connus. Plusieurs théories peuvent être émises pour tenter d'expliquer ces phénomènes. Nous nous proposons de les passer successivement en revue à la lumière des données bibliographiques les plus récentes.

b) Biohydrogénation bactérienne des acides gras insaturés chez les monogastriques

On peut penser à une biohydrogénation des acides gras insaturés par la flore gastro-intestinale. Par exemple, une partie des acides oléique (C18:1) et linoléique (C18:2) ingérée serait saturée en acide stéarique (C18:0) dont on connaît la mauvaise absorption intestinale. Cela aurait pour conséquence de faire disparaître de l'intestin grêle une certaine quantité d'acides gras insaturés et de faire apparaître des acides gras saturés. En faisant un bilan de digestibilité apparente, on devrait donc constater que l'absorption des acides gras insaturés est meilleure chez l'animal holoxénique et celle des acides gras saturés meilleure chez l'animal axénique.

On a vu précédemment quelle importance considérable pouvaient avoir les phénomènes de biohydrogénation chez le Ruminant. Qu'en est-il dans le cas du monogastrique ?

Les données bibliographiques sur ce sujet sont rares, car peu d'auteurs se sont intéressés au problème de la biohydrogénation bactérienne des acides gras insaturés en dehors de tout aspect pathologique.

On sait qu'il existe des bactéries capables de réaliser cette saturation dans l'intestin grêle du monogastrique. EYSEN et coll. (1973) montrent que deux bactéries anaérobies strictes isolées à partir des fèces de Rats holoxéniques sont capables, en association, de transformer l'acide linoléique (C18:2) en acide oléique (C18:1) puis en acide stéarique (C18:0). A notre connaissance, ce sont les seuls auteurs ayant pu réaliser, in vitro et in vivo, des biohydrogénations de ce type, et, en dehors de certains cas pathologiques tels que la stéatorrhée (HOET et coll., 1963), la mise en évidence d'une biohydrogénation quantitativement en relation avec la masse de matière grasse ingérée n'a pas pu être réalisée in vivo. Ainsi, chez l'Homme, GOMPERTZ et SAMMONS (1963) font ingérer à des individus en parfaite santé de l'acide érucique (C22:1) et ne trouvent pas d'acide béhénique (C22) dans les fèces. Chez deux autres sujets, atteints de malabsorption, les résultats sont similaires et la stéatorrhée se produit sans biohydrogénation. Dans un cas de malabsorption, ces auteurs rapportent une biohydrogénation partielle de l'acide érucique. Cependant, ils soulignent que, chez ce patient, la stéatorrhée était associée à la présence d'un mégacolon, ce qui augmentait considérablement la durée du transit des matières fécales dans la portion distale du tube digestif.

Pendant très longtemps, de nombreux auteurs ont été frappés par la richesse en acides gras saturés des matières grasses fécales par rapport aux matières grasses alimentaires souvent très insaturées. C'est ce qui les a conduit à penser à une saturation due à la flore gastro-intestinale. C'était ne pas tenir compte de l'absorption sélective des acides gras insaturés. Aujourd'hui, on sait que ces acides sont souvent absorbés à 95 - 100 p.100 à la différence des acides gras saturés souvent absorbés à 60 - 70 p.100. La quantité d'acides gras insaturés endogènes excrétée par voie fécale est faible et ne compense donc pas cette différence. Comment s'étonner alors de la richesse en acides saturés des matières grasses fécales ?

La biohydrogénation des acides gras polyinsaturés existe chez le monogastrique, mais ne doit, a priori, se produire que dans le colon ou la partie distale de l'iléon, là où le transit est ralenti. D'autre part, compte tenu du fait que même en cas de prolifération de la flore,

seule une très petite partie des acides gras est biohydrogénée, chez l'animal porteur d'une flore non pathogène ; cette quantité peut être considérée comme faible, voire même négligeable face à la grande quantité d'acides gras ingérée.

c) L'excrétion fécale de matière grasse endogène

On peut penser à une excrétion de matière grasse endogène plus importante en présence d'une flore. En effet, la flore gastro-intestinale se renouvelle en permanence, et une fraction de cette flore est excrétée quotidiennement. Ces bactéries contiennent des lipides qui se retrouvent dans les fèces et peuvent donc modifier les calculs de digestibilité. De plus, cette flore peut irriter continuellement la paroi intestinale et augmenter la desquamation des cellules épithéliales. Il s'ensuivrait une excrétion endogène de lipides cellulaires qui se retrouverait, en partie, au niveau fécal. Cette excrétion serait donc plus importante chez l'animal holoxénique que chez l'animal axénique. En dehors de l'étude de l'excrétion fécale de graisse en régime lipidoprive, on ne possède pas beaucoup de données sur ce problème. EVRARD et coll. (1964, 1965) étudient cette excrétion endogène et montrent qu'en régime lipidoprive, il n'y a pas de différence significative entre les excrétions endogènes des Rats axéniques et holoxéniques. Les premiers excrètent, en moyenne, dans leurs conditions expérimentales, 1,84 milligramme d'acides gras par gramme d'aliment ingéré contre 1,93 milligramme chez les seconds.

Ces résultats ne sont évidemment qu'indicatifs, car on sait que la composition en acides gras des matières grasses ingérées, influence directement la quantité et le type d'acides gras endogènes excrétés par voie fécale chez le Rat holoxénique (SCRIBANTE et FAVARGER, 1954 ; WERNER, 1965). Cependant, on imagine difficilement que les excrétions endogènes, quantitativement identiques chez les deux types d'animaux en régime lipidoprive, puissent fortement se différencier en régime lipidique.

d) Action de la flore au niveau de la lipolyse

Parmi les autres hypothèses qu'il faut encore envisager, l'action de la flore intestinale sur la lipase pancréatique paraît intéressante. On pourrait, en effet, penser à une destruction d'une partie de la lipase excrétée par le pancréas, ou à une inactivation partielle de cette enzyme au niveau duodénal par des protéases bactériennes. Il s'ensuivrait une lipolyse imparfaite des triglycérides alimentaires chez l'animal holoxénique. Chez l'animal axénique, la lipolyse serait donc plus efficace, et l'absorption plus complète.

EVARD et coll.(1964) et EYSEN (1966) rapportent que, dans les fèces des Rats axéniques, soumis à une alimentation lipidoprive ou contenant 6 p.100 d'huile de maïs, il y a toujours une plus forte quantité d'acides gras libres que dans les fèces des Rats holoxéniques. Ces auteurs pensent que la lipolyse est moins efficace chez ces derniers. Cependant, cet avis n'est pas partagé par tous les auteurs. Ainsi, DONALSON (1965) étudie la lipolyse dans des cas de prolifération bactérienne obtenue par création d'une anse borgne au niveau jéjunale, chez des Rats holoxéniques. En injectant directement dans le duodénum de la trioléine marquée au carbone 14, et en étudiant, après 30 minutes, la teneur en acides gras libres dans l'intestin, cet auteur n'observe pas de différence entre ces animaux et des témoins holoxéniques normaux. KIM et coll. (1966), chez le Chien, et dans des conditions à peu près identiques, arrivent aux mêmes conclusions.

LEPKOVSKY et coll. (1966) étudient l'activité de différentes enzymes pancréatiques chez le Rat axénique et chez le Rat holoxénique. Pour ce qui concerne la lipase, au niveau du pancréas, les activités sont identiques. Il en est de même dans l'intestin grêle, le caecum et le colon. Cependant, pour ces auteurs, on observe dans les deux cas une diminution modérée et progressive de l'activité lipasique au fur et à mesure que l'on passe de la partie antérieure de l'intestin grêle au caecum, puis au colon. Pour REDDY, PLEASANTS et WOSTMANN (1969), en régime identique, les Rats axéniques et holoxéniques ont des pancréas de poids comparable et de structure histologique similaire. Les activités de la lipase sont semblables dans le pancréas et dans l'intestin des deux catégories d'animaux. En revanche, au niveau du caecum et du colon, chez le Rat holoxénique, on observe une diminution de l'activité lipasique qui pourrait refléter une destruction de l'enzyme par la flore. Il en est de même pour toutes les autres enzymes pancréatiques étudiées. Enfin, TENNANT et coll.(1969) ne notent pas de différences dans la lipolyse de la trioléine marquée à l'iode 131 dans l'intestin grêle chez le Rat holoxénique et chez le Rat axénique.

Il ne semble donc pas que la lipolyse, tout au moins dans la partie proximale de l'intestin grêle, soit affectée par la présence d'une flore. Cependant, il est possible d'envisager que des triglycérides ayant échappé à la lipolyse dans l'intestin grêle soient hydrolysés dans le colon chez le Rat axénique, puisque l'activité lipasique semble y être plus importante que dans celui du Rat holoxénique.

e) Le transit gastro-intestinal

Il faut noter que, chez le Rat et la Souris, la présence d'une flore gastro-intestinale modifie la vitesse du transit. Chez la Souris axénique, ABRAMS et BISHOP (1967), puis DUCLUZEAU, BELLIER et RAIBAUD (1970) montrent que la vitesse de transit d'un marqueur chimique (radioélément) ou microbien (spores de bactéries thermophiles strictes) ^{est} ~~était~~ plus lente que chez la Souris holoxénique. SACQUET, GARNIER et RAIBAUD (1970) arrivent aux mêmes conclusions chez le Rat. Ces auteurs pensent que l'hypertrophie du caecum, qui se produit chez les Rats axéniques, joue un rôle important dans le ralentissement du transit, mais n'explique pas tout le phénomène : l'ablation du caecum (caecectomie) chez le Rat axénique augmente la vitesse du transit au niveau de l'intestin grêle et du gros intestin, mais n'augmente pas la vitesse du transit stomacal, qui demeure inférieure à ce qu'elle est chez le Rat holoxénique.

Si le transit ralentit en absence de germes, on peut penser que l'absorption intestinale des nutriments peut être modifiée. Dans le cas des acides gras longs et saturés, difficilement absorbés, la vitesse de transit pourrait jouer un rôle qui reste encore à déterminer.

f) La flore gastro-intestinale et les acides biliaires*

Les sels biliaires jouent un rôle fondamental dans les phénomènes d'absorption des lipides et la flore microbienne du tube digestif les modifie de différentes manières. De nombreuses bactéries possèdent des hydrolases, au moyen desquelles elles scindent la liaison entre la taurine ou la glycine et l'acide biliaire proprement dit (ARIES et HILL, 1970 a ; HILL et DRASAR, 1968 ; NORMAN et WIDSTROM, 1964 ; SHIMADA, BRICKNELL et FINEGOLD, 1969), des deshydrogénases, qui, selon le pH, forment des cétones ou au contraire réduisent ces cétones en alcools (ARIES et HILL, 1970 b). Ces deshydrogénases sont actives à la fois sur les acides biliaires libres et conjugués, elles sont spécifiques de la position occupée par l'hydroxyle sur la molécule et de l'orientation spatiale de cet hydroxyle (position α ou β). Certaines bactéries, apparemment plus rares, possèdent une γ alpha ou bêta deshy-

./.

*Remarque : Le pKa des acides biliaires conjugués à la taurine est de l'ordre de 2, celui des acides biliaires conjugués à la glycine est de l'ordre de 3,5. Celui des acides biliaires libres est de l'ordre de 6. Le pH de l'intestin grêle du Rat varie entre 6 et 7. Au niveau de l'intestin grêle, les acides biliaires conjugués existent donc sous forme de sels, les acides biliaires libres sont à la fois sous forme de sels et sous forme d'acides. Nous parlerons, pour la simplicité de l'exposé, de sels biliaires (conjugués) et d'acides biliaires (libres).

droxylase : sous leur action, l'acide cholique est transformé en acide desoxycholique, et l'acide chénodesoxycholique en acide lithocholique (ARIES et HILL, 1970 b ; GUSTAFSSON, MIDVEDT et NORMAN, 1966 ; MIDVEDT et NORMAN, 1968 a ; MIDVEDT et NORMAN, 1968 b ; MIDVEDT, NORMAN et NYGAARD, 1969) (voir tableau 2, hors texte, pour la nomenclature des acides biliaires).

Cette 7 α -deshydrogénase n'agit que sur les acides biliaires libres et n'agit pas sur les sels biliaires conjugués, ni sur les esters méthyliques, le substrat se fixant au niveau du carboxyle au cours de la réaction enzymatique (ARIES et HILL, 1970 b). Quelques bactéries enfin sont capables de faire apparaître une double liaison en 4 sur les acides biliaires porteurs en 3 d'une fonction cétone (ARIES et HILL, 1970 c), et même de former, à partir de cet intermédiaire, des acides 5 α cholanique. C'est par un tel mécanisme que se forme, à partir de l'acide desoxycholique, l'acide allodésoxycholique qui est un des constituants majeurs des calculs biliaires (KALLNER, 1967).

Enfin, si la destruction du noyau cholanique des acides biliaires n'a pas été décrite, la dégradation complète de certains stéroïdes par des extraits enzymatiques de Pseudomonas testosteroni a été décrite par COULTER et TABALAY (1968). La liste des dégradations que les bactéries sont capables de faire subir aux sels biliaires est sans doute loin d'être close.

Chez l'animal holoxénique, les sels biliaires, excrétés par la bile, subissent au niveau de l'intestin les actions enzymatiques des bactéries, sont réabsorbés pour la plus grande part, et, par le système porte, regagnent le foie où ils sont soumis à diverses actions enzymatiques variables selon les espèces animales. Ce cycle entéro-hépatique est très actif et seule une fraction minime du pool total y échappe et est excrétée par les fèces. La composition en acides biliaires, au niveau de l'intestin grêle, lieu de la digestion et de l'absorption des lipides est le résultat de ces actions multiples : synthèse au niveau de l'hépatocyte, excrétion par la bile, transformation par les enzymes bactériennes, réabsorption, selon différents mécanismes, par la muqueuse intestinale, retour au foie où ces métabolites subissent de nouvelles transformations enzymatiques et interviennent dans la régulation de la synthèse.

La comparaison entre la composition de la bile et des contenus intestinaux en acides biliaires d'un animal axénique avec celle d'un animal holoxénique ou gnotoxénique permet d'apprécier l'importance des transformations que la microflore intestinale fait subir à ce métabolisme et la façon dont l'organisme animal réagit à ces altérations. L'acide desoxycholique, par exemple, nous l'avons vu précédemment, est formé par l'action

d'une 7-deshydroxylase bactérienne sur l'acide cholique. Le foie de lapin ne possède pas d'enzyme capable de réhydroxyler en 7 l'acide desoxycholique et de reformer, ainsi, de l'acide cholique (EKDAHL et SJÖVALL 1955). Il en résulte que, lorsque 95 p.100 des acides biliaires du Lapin axénique sont constitués d'acide cholique, une proportion semblable des acides biliaires du Lapin holoxénique est constituée d'acide desoxycholique (HOFMANN, MOSBACH, SWEELEY, 1964).

Chez le Rat holoxénique, dont le foie possède l'équipement enzymatique adéquat, l'acide desoxycholique ne constitue que 2 à 5 p.100 des acides biliaires de la bile. Le foie du Rat exerce d'autres actions enzymatiques sur les métabolites bactériens des acides biliaires : outre l'action ci-dessus mentionnée, cet organe reconjugué les acides biliaires en formant des composés α ou β hydroxylés (THOMAS et coll., 1964).

Du fait de l'absence de métabolites bactériens, la composition de la bile du Rat axénique en acides biliaires est beaucoup plus simple que celle du Rat holoxénique : le tableau 1 présente une analyse comparée des acides biliaires de la bile chez le Rat axénique et chez le Rat holoxénique. Mais, les différences de composition des acides biliaires qui sont observées entre les deux groupes ne se limitent pas à l'absence de métabolites bactériens chez l'axénique. Chez celui-ci, la bile, comparée à la bile de l'holoxénique, contient une moindre proportion d'acide cholique et une proportion plus élevée d'acide β -muricholique. La répartition des acides déhydroxylés (chénodesoxycholique, ursodesoxycholique, élément indéterminé n° 10) est différente, soit que, chez l'holoxénique, certains acides biliaires soient métabolisés par la flore microbienne d'une manière préférentielle, soit que, par un mécanisme indéterminé, la régulation de leur synthèse soit modifiée en présence d'une flore microbienne.

Enfin, la présence d'une flore microbienne exerce d'autres actions importantes : le métabolisme des acides biliaires est plus actif chez le Rat holoxénique. Le catabolisme oxydatif du cholestérol, dont les acides biliaires représentent la dérivation principale, est plus intense (WOSTMANN, WIECH, KUNG, 1966), la demi-vie de l'acide cholique C14 est beaucoup plus courte (GUSTAFSSON et coll., 1957), l'excrétion fécale des acides biliaires totaux plus importante. Fait nouveau, la quantité totale des sels biliaires conjugués chez le Rat axénique est beaucoup plus élevée que chez le Rat holoxénique : d'après les estimations de SACQUET (1971) dans la bile du Rat CF, recueillie dans les deux premières heures qui suivent le catéthérisme du canal cholédoque, la concentration des sels biliaires conjugués est

Tableau 1. Composition, en pourcentage des acides biliaires dans la bile des Rats axéniques, holoxéniques ou polyxéniques.

Acides	Tache n°	Composés ayant la mobilité de l'ester méthylique de l'acide	R _F	Axéniques	Holoxéniques
Trihydroxylés	1	cholique	1,00	38,7	53,8
	2	trihydroxylé n° 2	1,31	2,4	traces
	3	trihydroxylé n° 3	1,71	0,7	3,4
	4	β -muricholique	2,25	39,2	11,2
Dihydroxylés	5	hyodésoxycholique	3,00	0	9,5
	6	7-céto-3,12 α dihydroxylé	3,30	1,8 (2)	
	7	chénodésoxycholique	3,80	4,3	4,3
	8	désoxycholique	4,31	0	4,3
	9	ursodésoxycholique	4,56	11,4	5,5
	10	inconnu	4,89		
	11	—	5,19	0	
Mono-hydroxylés	12	inconnu	5,62	1,6	4,6
	13	lithocholique	5,82	0	
	14	inconnu	6,04	0	

est environ trois fois plus élevée chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique (69 micromoles/ml chez l'axénique contre 21 micromoles/ml chez l'holoxénique), et il en est de même de la quantité totale de sels biliaires conjugués présents au niveau de l'intestin grêle (186 micromoles/ml chez l'axénique contre 67 micromoles/ml chez l'holoxénique).

Les mécanismes par lesquels s'établit cette importante différence sont à élucider, mais il est vraisemblable que les faits suivants concourent à cet état de choses :

- a) Chez le Rat axénique, le transit gastro-intestinal est plus lent que chez le Rat holoxénique ;
- b) Chez le Rat axénique, les acides biliaires existent entièrement sous forme de sels conjugués, et ceux-ci ne sont absorbés que dans la partie distale de l'intestin grêle. Au contraire, chez le Rat holoxénique, une partie de ces sels biliaires sont déconjugués par les bactéries et les acides libres sont absorbés rapidement à n'importe quel niveau de l'intestin et par des mécanismes qui sont différents de ceux par lesquels les sels conjugués sont absorbés ;
- c) Chez le Rat axénique, le foie est déchargé de toute une série d'activités qu'il doit accomplir chez le Rat holoxénique ; en particulier reconjuguaison des acides biliaires libres, réhydroxylation, réduction des cétones.

C. OBJET DU TRAVAIL

Si on commence à bien connaître le rôle joué par les microorganismes au cours de la digestion des lipides chez le polygastrique, les données bibliographiques qui peuvent être réunies à ce propos pour l'animal monogastrique, forment un ensemble d'informations partielles qui ne permet, en aucun cas, d'avoir une vue d'ensemble cohérente sur les phénomènes.

Dans le travail que nous présentons ici, notre ambition a été de rechercher, dans un premier temps, dans quelle mesure la flore du tractus digestif des monogastriques pouvait modifier l'absorption d'une matière grasse donnée de composition en acides gras connue. Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à rechercher si les modifications de l'absorption des matières grasses testées étaient liées à une modification de l'absorption de l'ensemble des acides gras ou seulement de quelques-uns d'entre-eux.

Enfin, et à la lumière des résultats obtenus au cours de ces premiers travaux, notre étude a été orientée vers des recherches plus spécifiques qui devaient nous permettre d'expliquer, au moins partiellement, les phénomènes que nous avons mis en évidence.

Cette étude comporte trois parties :

- La première partie de ce travail (chapitre 1) est consacrée à l'étude de l'excrétion des lipides fécaux d'origine endogène en présence et absence de flore gastro-intestinale. On aborde, également à ce niveau, l'étude de la vitesse de transit des acides gras d'origine exogène.
- La seconde partie (chapitres 2 et 3) présente les résultats de différentes études de bilans digestifs d'acides gras permettant de mettre en évidence l'influence de la flore du tractus digestif sur l'absorption apparente de ces molécules. On étudie, également à ce niveau, les formes d'excrétion fécale des acides gras et, plus exactement, dans quelle mesure la flore du tractus digestif modifie la répartition des acides gras entre les formes dites "solubles" et "insolubles".
- La dernière partie de ce mémoire (chapitres 4, 5 et 6) rapporte les résultats de travaux que nous avons entrepris pour rechercher les facteurs susceptibles de jouer un rôle dans les phénomènes que nous décrivons dans la deuxième partie de cette thèse. Les mécanismes sont abordés soit au niveau anatomo-physiologique par le biais d'interventions chirurgicales (ablation du caecum, création d'anse borgne jéjunale), soit au niveau biochimique par supplémentation de la ration alimentaire (étude du rôle des sels biliaires (conjugués en particulier).

- MATERIEL ET METHODES -

A. ANIMAUX ET EXPERIMENTATION

1. Animaux

Les Rats axéniques et holoxéniques utilisés dans les études comparatives, dont nous présentons ici les résultats, sont des animaux de souche "Fischer". Pour ce qui concerne les Rats axéniques, ils sont issus de plusieurs générations élevées et reproduites en isolateurs dans des conditions aseptiques au Service des Animaux sans Germes (C.N.R.S. - I.N.R.A.).

Dans le cadre de l'étude particulière du "syndrome de l'anse aveugle", nous avons utilisé des animaux holoxéniques de souche "Wistar".

2. Conditions expérimentales

Les Rats axéniques sont maintenus en cages individuelles dans des isolateurs en film plastique (isolateurs de Trexler), à l'abri de toute contamination bactérienne. Les Rats holoxéniques sont maintenus à l'air libre en cages individuelles.

Les techniques générales de maintien des animaux en état axénique ne seront pas développées dans ce travail. Elles ont été présentées par ailleurs (SACQUET, 1968).

Les aliments sont dans tous les cas stérilisés par autoclavage à 120°C, pendant 20 minutes, et se présentent sous forme de pellets.

D'une façon générale, les animaux reçoivent d'abord le régime testé pendant une période d'acclimatation (environ 1 semaine). Puis, ils sont soumis à un jeûne sévère de 48 heures, ce qui permet de vider, d'une façon quasiment totale, le tube digestif. Les fèces correspondant à la période d'acclimatation sont éliminées et chaque rat reçoit un pellet d'aliment expérimental. Les fèces sont collectées pour chaque animal et la collecte se prolonge après la fin de la soumission au régime expérimental, pendant une nouvelle période de jeûne, afin que le tube digestif se vide totalement. Les fèces sont conservées en chambre froide, puis deshydratées dans une étuve à vide ($T^{\circ} = 60^{\circ}\text{C}$) jusqu'à obtention d'un poids constant. Après avoir été pesées, elles sont ensuite finement broyées dans un broyeur à billes.

B. METHODE D'ANALYSE

1. Extraction des lipides fécaux

Dans les matières fécales, les lipides, et principalement les acides gras, se trouvent sous plusieurs formes, les uns solubles dans les solvants organiques classiques (chloroforme, hexane, éther de pétrole...), les autres insolubles dans les solvants. Ces formes de lipides insolubles sont essentiellement représentées dans les fèces par les sels d'acides gras et de cations bivalents : Ca^{++} , Mg^{++} ... Les savons de calcium sont de loin les plus importants (FAKAMBI et al., 1969).

Si on désire séparer les fractions de lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I.) lors de l'extraction, il est nécessaire de procéder en deux temps en suivant le principe de la méthode de TOULLEC et al., (1968).

a) Extraction des lipides solubles (F.S.)

L'extraction de la fraction dite soluble se fait à froid en suivant la technique de FOLCH et al. (1957).

On pèse, selon la richesse supposée de l'échantillon en lipides, exactement 3 à 6 g de poudre de matière sèche fécale finement broyée. Cette opération se fait dans un pot en verre de marque M.S.E. soigneusement taré au préalable. On ajoute ensuite à cet échantillon le contenu d'une spatule d'Hyflosupercel. Cette dilution permettra de faciliter la filtration de l'extrait sur verre fritté et limitera les pertes lors de la récupération du résidu d'extraction.

On prépare un mélange de chloroforme distillé-méthanol distillé dans les proportions (2:1) v/v.

Après agitation de ce mélange, on en verse 50 ml dans le pot M.S.E. contenant l'échantillon à analyser.

L'extraction se fait en employant un homogénéiseur de type M.S.E. tournant à la vitesse de 15.000 t/min. Après une homogénéisation de 3 minutes (3 fois 1 minute, avec interruption d'une minute pour laisser refroidir l'appareil), on filtre le mélange sur verre fritté numéro 1 muni d'un papier Whatman GF/C de diamètre approprié à celui du verre fritté et recouvert d'une fine couche d'Hyflosupercel tassé. La filtration se fait sous vide et l'extrait est recueilli dans une fiole à vide de 500 ml.

Le résidu de filtration est transféré dans le pot du broyeur-homogénéiseur afin de subir une nouvelle extraction. On procède ainsi à 3 extractions.

Les 3 filtrats se trouvant réunis dans la fiole à vide sont ensuite transférés dans une ampoule à décanter préalablement graduée à 150 ml. On ajuste à 150 ml avec du mélange chloroforme-méthanol (2:1) v/v ayant servi à rincer la fiole à vide.

On prépare une solution aqueuse à 0,73 p.100 de NaCl, et on ajoute 37 ml de cette solution aux 150 ml de solvant contenu dans l'ampoule à décanter. On agite l'ampoule et on laisse les phases s'équilibrer pendant la nuit.

Le lendemain, on recueille la phase inférieure dans un erlenmeyer de 250 ml. On ajoute environ 3 grammes de sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau. On filtre ensuite l'extrait sur papier filtre plissé Durieux, et on le recueille dans un ballon rodé et taré et contenant quelques grains de pierre ponce. On rince l'erlenmeyer avec environ 10 ml chloroforme que l'on transfère dans le ballon après filtration.

Le solvant du ballon est ensuite évaporé à l'évaporateur rotatif (température du bain d'eau $\leq 35^{\circ}\text{C}$). On élimine les traces de solvant par évaporation sous vide avec un barbotage d'azote (capillaire) ; le ballon rodé étant placé dans un courant d'air chaud.

On laisse refroidir et on pèse. Connaissant le poids du ballon taré, on obtient par différence le poids de lipides "solubles" (F.S.). En rapportant ce poids à celui de l'échantillon, on obtient la concentration en lipides solubles. En multipliant cette concentration par le poids de fèces, excrété durant la période considérée, on obtient la quantité de lipides solubles excrétés.

b) Extraction des lipides de la fraction insoluble (F.I.)

On reprend le résidu de l'extraction précédente dans le récipient de broyage.

On prépare une solution contenant par litre : 500 ml d'éthanol à 95°, 400 ml d'eau distillée, 100 ml d'acide chlorhydrique 10N, et du chlorure de sodium jusqu'à saturation. On homogénéise le mélange et on en verse 40 ml dans le récipient de broyage. On y ajoute, par la suite, 50 ml d'éther de pétrole (fraction 45-70°) redistillé.

L'extraction est conduite comme précédemment avec 3 passages successifs de 3 minutes au broyeur M.S.E., en employant toujours le même liquide d'extraction. L'émulsion obtenue est filtrée sur verre fritté 1 ou 2 muni d'une fine couche d'Hyflosupercel. La filtration de cette émulsion nécessite, dans tous les cas, une aspiration par le vide. L'émulsion est

recueillie dans une fiole à vide de 500 ml et est ensuite transférée dans une ampoule à décanter. La fiole est rincée avec 15 ml d'éther de pétrole que l'on recueille également dans l'ampoule.

On laisse ensuite décanter le mélange pendant une nuit pour permettre une bonne séparation des phases aqueuse et organique. On soutire alors la phase aqueuse et on lave la phase organique à l'eau distillée afin d'entraîner les traces d'acide. On procède par rinçage successifs que l'on arrête lorsque l'eau de lavage est à pH neutre.

La phase étherée est ensuite recueillie dans un erlenmeyer de 250 ml, puis séchée sur sulfate de sodium anhydre.

Les opérations suivantes (filtration, évaporation, pesée) sont identiques à celles décrites pour l'extraction des lipides de la fraction soluble. On obtient ainsi la concentration en lipides insolubles (F.I.) dans l'échantillon de fèces analysé et le poids excrété par l'animal considéré pendant la période étudiée.

c) Extraction directe des lipides totaux (L.T.)

Quand on ne désire pas séparer les fractions solubles (F.S.) et insolubles (F.I.), on procède à une extraction globale de l'échantillon à étudier avec la technique d'extraction déjà décrite pour l'extraction de la fraction insoluble (paragraphe précédent).

2. Extraction des lipides de la ration

L'échantillon d'aliment à analyser est déshydraté de la même façon que les échantillons de fèces. Cependant, comme il s'agit de pellets de gros diamètre (3 cm) ils sont pulvérisés avant d'être séchés.

Compte tenu du fait que la ration ne comporte que des triglycérides (matières grasses) et une faible quantité d'autres molécules liposolubles (vitamines essentiellement), l'extraction directe par un solvant organique ^{suffit} à entraîner l'ensemble des lipides.

On utilise la même technique que celle qui est décrite pour l'extraction de la fraction soluble des lipides fécaux.

3. Séparation directe des acides gras par saponification

Afin de séparer rapidement l'ensemble des acides gras des autres constituants des lipides extraits des fèces ou des aliments, on procède à une saponification.

On prépare une solution de potasse alcoolique à 10 p.100 (la potasse est diluée d'abord dans un faible volume d'eau). On verse dans le

ballon rodé contenant l'extrait lipidique 50 ml de cette solution. La saponification se fait à froid et on laisse la réaction se poursuivre toute une nuit.

Le lendemain, on transfère le contenu du ballon dans une ampoule à décanter. On rince le ballon avec 50 ml d'eau distillée que l'on verse ensuite dans l'ampoule.

La fraction de lipides non saponifiés est alors extraite par 3 fois 20 ml d'éther de pétrole distillé en agitant énergiquement l'ampoule et en prenant soin de faire évacuer régulièrement les vapeurs de solvant. La fraction organique contenant les lipides insaponifiables est recueillie dans un erlenmeyer de 200 ml, et séchée sur sulfate de sodium anhydre. Après filtration et évaporation, cette fraction peut être pesée et analysée.

Les savons de potasse solubles dans la phase aqueuse sont ensuite hydrolysés dans l'ampoule à décanter par 12 ml d'acide chlorhydrique RP (s'assurer que le pH est ≤ 2). On ajoute 20 ml d'éther de pétrole distillé afin de solubiliser les acides gras libérés en agitant l'ampoule et en prenant soin de faire évacuer régulièrement les vapeurs. On procède à 3 extractions successives, on réunit les 3 fractions dans l'ampoule à décanter et on lave par l'eau distillée jusqu'à neutralité. La phase organique contenant les acides gras est séchée sur sulfate de sodium anhydre dans un erlenmeyer de 250 ml. On procède ensuite, et comme nous l'avons décrit plus haut, à l'évaporation du solvant et à la pesée des acides gras.

4. Préparation des esters méthyliques d'acides gras

Dans le ballon rodé contenant les acides gras séparés des autres constituants lipidiques par saponification, on ajoute 100 ml d'un mélange de méthanol-acide chlorhydrique (3 p.100).

On porte à ébullition sous reflux pendant 1 heure. Après refroidissement, on transfère dans une ampoule à décanter. On rince le ballon avec 100 ml d'eau distillée que l'on transfère également dans l'ampoule à décanter.

On extrait les esters méthyliques par 3 fois 20 ml d'éther de pétrole distillé. On réunit les 3 fractions dans l'ampoule et on lave à l'eau distillée jusqu'à neutralité. On sèche l'extrait sur sulfate de sodium anhydre et on évapore le solvant en conservant 1 à 5 ml d'éther de pétrole.

Ce volume est ensuite transvasé dans un petit pilulier portant référence de l'échantillon. Le récipient est saturé d'azote, bouché, puis stocké au congélateur à -30°C jusqu'à analyse par chromatographie en phase gazeuse.

5. Analyse qualitative et quantitative des acides gras par chromatographie en phase gazeuse

Les acides gras sous forme d'esters méthyliques sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, à l'aide d'un appareil Microtek Inst. Inc. muni d'un détecteur à ionisation de flamme.

Les colonnes employées pour ces analyses sont des colonnes métalliques (Inox) de 2 à 3 mètres de long et d'un diamètre interne d'environ 4 mm. Le support inerte est un support siliconé WHMDS (Girdel) 60 mesh imprégné de 12 p.100 de succinate de diéthylène glycol (DEGS). Le nombre de plateaux théoriques (variables selon les colonnes utilisées et les conditions opératoires) est en moyenne de 2500 (calculs réalisés sur le pic de l'acide stéarique).

Le gaz vecteur est l'azote et le débit en sortie de colonne est de 35 ml/minute. Les conditions de température sont les suivantes :

- . Température de l'injecteur = environ 230°C
- . Température du détecteur = environ 250°C
- . Température du four = environ 170°C.

Les échantillons à analyser sont injectés à l'aide de microséringues Hamilton ou SGE. Les quantités injectées (variables selon la concentration en esters méthyliques) vont de 0,2 à 0,5 micro-litre.

Le chromatogramme est enregistré sur un enregistreur de marque Honeywell équipé avec un intégrateur électromécanique Disc.

La surface des différents pics du chromatogramme est proportionnelle à la concentration des différents esters méthyliques dans le mélange analysé. Les résultats sont exprimés en p.100 de l'ensemble des esters méthyliques dosés.

6. Dosage des acides biliaires au niveau de l'intestin grêle

Le dosage des acides biliaires (chap. IV et V) a été effectué dans le Laboratoire du Service des Animaux sans Germes du C.N.R.S. en suivant la technique proposée par SACQUET (1971). Nous nous bornerons à rappeler, ici, les principales étapes de ce dosage.

La totalité de l'intestin grêle, contenu et contenant, est prélevée, broyée et soumise à l'analyse.

La méthode d'analyse et de dosage tient compte de ce que la séparation et le dosage des diverses espèces chimiques de sels biliaires s'accompagne de pertes qu'il est nécessaire de pouvoir apprécier non seulement pour l'ensemble des sels biliaires, mais aussi pour chaque espèce chimique.

Elle consiste à introduire, dans la préparation soumise à l'analyse, une quantité connue de sels biliaires $4\text{-}^{14}\text{C}$; et, après séparation, à doser les sels biliaires en considérant que les acides marqués au carbone 14 subissent au cours de l'analyse les mêmes pertes que leurs homologues non marqués.

La préparation de sels biliaires $4\text{-}^{14}\text{C}$ est constituée par un extrait éthanolique de bile de Rat holoxénique ayant reçu du cholestérol $4\text{-}^{14}\text{C}$ et dont la composition a fait l'objet de déterminations précises et renouvelées.

Les rats sont anesthésiés à l'éther, les intestins sont prélevés, rassemblés, broyés dans l'éthanol et soumis à trois extractions éthanoliques à reflux pendant 48 heures. Ces extraits sont traités par la technique de GRUNDY et al. (1965) et les esters méthyliques sont soumis à deux types de chromatographie sur gel de silice G, en couches minces :

- A) - une fraction est soumise à une chromatographie ascendante sur couche $20 \times 20 \times 0,025$ cm d'abord par le benzène, puis par le mélange chloroforme/méthanol/ammoniaque 12 N : 90/45/10 selon SUBBIAH et KUKSIS (1968) ;
- B) - une fraction est soumise à une chromatographie descendante sur plaque $40 \times 20 \times 0,05$ cm, d'abord par le benzène puis par le mélange chloroforme/acétone/méthanol : 70/25/5 (HOFMANN, 1964).

La technique A rassemble les esters méthyliques sur une étroite bande de gel : elle permet de vérifier que la méthylation est totale et d'effectuer un dosage de la quantité totale des sels biliaires.

La technique B permet de séparer les esters méthyliques des acides cholique, β -muricholique, hyodésoxycholique, desoxycholique, ursodesoxycholique, d'autres acides dihydroxylés indéterminés, de l'acide lithocholique et de deux composés indéterminés voisins de celui-ci. La fraction qui contient l'acide cholique contient aussi l'acide α -muricholique et un autre acide trihydroxylé inconnu, qui ont toujours été trouvés en faible quantité (de l'ordre de 2 p.100 de l'ensemble des acides biliaires) quand ils ont été dosés.

Après élution par le méthanol, les différentes fractions font l'objet d'une part, d'une mesure de la radioactivité par mesure en scintillation liquide dans le mélange diméthyl POPOP : 0,1 g, PPO : 0,04 g, toluène 1 litre ; d'autre part, d'une mesure de la masse des sels biliaires par dosage enzymatique par la 3 hydroxy-stéroïde-déhydrogénase selon STEMPFEL et SEDBURY (1964).

Cette méthode permet de doser les sels biliaires avec une précision qui est satisfaisante : l'écart entre les valeurs extrêmes dans une

série de dosages d'un même échantillon est de 10 p.100. La radioactivité retrouvée en fin d'expérience est supérieure à 90 p.100 de la radioactivité introduite. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle est très longue et, qu'en conséquence, les dosages ne peuvent être faits que sur le pool des extraits éthanoliques et non pas sur les extraits obtenus à partir de chaque prélèvement.

C. METHODES DE CALCUL

1. Détermination de l'utilisation digestive des matières grasses et des acides gras

- On détermine la teneur en matières grasses dans l'aliment sec broyé et sa teneur en acides gras totaux (en général de 90 à 95 p.100 de la teneur en matières grasses).

- On mesure ensuite la quantité de matière sèche ingérée durant la période expérimentale. Comme les animaux sont en isolateurs, et que l'on détermine la quantité d'aliment humide ingéré sur plusieurs jours, on suit la deshydratation de l'aliment pendant cette période à l'aide d'un pellet témoin de poids connu placé dans les mêmes conditions expérimentales. La perte de poids de ce pellet permet d'estimer la deshydratation de l'aliment pendant la période expérimentale et de corriger le poids humide de l'ingesta. Connaissant la teneur initiale en eau de l'aliment, la quantité distribuée en début de période expérimentale, la deshydratation de l'aliment, et la quantité d'aliment refusée, en fin d'expérience, on peut calculer d'abord la quantité d'aliment humide ingérée, puis la quantité de matière sèche ingérée. A partir de ce résultat, et en appliquant les données numériques concernant la teneur en matières grasses de la ration, on obtient la quantité de matières grasses ingérées, puis la quantité globale d'acides gras ingérée.

- Pour obtenir la quantité de chaque acide gras ingérée, il suffit alors de multiplier la quantité globale par la teneur respective en chaque acide gras dans la matière grasse ingérée.

- Pour obtenir la quantité globale de matière grasse excrétée, on additionne les teneurs en lipides solubles et insolubles de la matière sèche et on multiplie cette donnée par la quantité de matière sèche fécale émise. Pour ce qui concerne les acides gras, on additionne les quantités de

chaque acide gras excrétées dans les fractions solubles et insolubles en utilisant les résultats des analyses de chromatographie en phase gazeuse.

Pour déterminer les coefficients d'utilisation digestive apparente (matière sèche, matière grasse, acides gras) on utilise la formule générale :

$$\text{C.U.D.a.} = \frac{\text{quantité ingérée (g)} - \text{quantité excrétée (g)}}{\text{quantité ingérée (g)}} \times 100$$

2. Mode de présentation des résultats et analyse statistique des données expérimentales

Dans tous les tableaux et les graphiques (sauf indications contraires) le mode d'expression choisi correspond à la présentation des valeurs moyennes suivies de l'erreur-standard ou écart type de la moyenne = $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

Pour établir la signification de la différence entre deux valeurs moyennes, on rapporte cette différence à la racine carrée de leur covariance. La probabilité d'identité des deux moyennes est déterminée par l'emploi des tables de "t" de STUDENT pour le degré de liberté de l'ensemble des deux distributions. La différence est considérée comme significative lorsque la probabilité d'identité des deux distributions est plus petite que 5 p.100.

Les calculs sont réalisés à l'aide d'une calculatrice OLIVETTI (Programma 102).

- RESULTATS -

CHAPITRE I

ETUDE DES LIPIDES FECAUX D'ORIGINE ENDOGENE EN PRESENCE ET EN ABSENCE DE FLORE GASTRO-INTESTINALE. INFLUENCE DE LA FLORE SUR LE TRANSIT DES ACIDES GRAS

A. INTRODUCTION

Nous avons vu, dans l'introduction bibliographique, que les modifications biochimiques et physiologiques engendrées par la simple présence d'une flore non pathogène dans le tractus digestif étaient nombreuses. Notre premier objectif a été d'étudier deux aspects particuliers de ces modifications en relation directe avec notre étude.

- Le premier aspect concerne les différences d'excrétion fécale de lipides endogènes sur lesquelles nous ne possédons que très peu d'informations. L'étude de ce facteur mérite d'attirer notre attention, car des différences d'excrétion endogène peuvent fausser les calculs d'absorption des lipides et des acides gras.

- Le second aspect concerne les différences du transit digestif. Le Rat axénique présente un transit digestif tout à fait différent de celui du Rat holoxénique. Nous avons tenté de rechercher quelle influence pouvait avoir la présence d'une flore gastro-intestinale non contrôlée sur le transit global d'un acide gras peu digestible : l'acide palmitique (C16:0).

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Régime et alimentation

- Pour étudier l'excrétion fécale d'origine endogène, nous avons réalisé un régime lipidoprive I dont la composition centésimale est rapportée dans le tableau 2. Les vitamines liposolubles sont introduites dans le mélange en solution alcoolique avant la stérilisation.

Tableau 2. Composition centésimale des régimes

Eléments	Régime I	Régime II	Régime III
Caséine	20,0	20,0	20,0
Amidon de maïs	60,0	55,0	50,0
Sucre	15,0	10,0	5,0
Sels minéraux	3,0	3,0	3,0
Vitamines et acides aminés complémentaires	1,5	1,5	1,5
Cellulose	0,5	5,5	10,5
Acide palmitique	0,0	5,0	10,0

- Pour étudier le transit de l'acide palmitique, nous avons employé deux régimes (régimes II et III) contenant 5 ou 10 p.100 de cet acide sous forme libre (Acide palmitique "Fluka", pureté : 99,5 p.100). La composition de ces régimes est rapportée dans le tableau 2.

2) Animaux et protocole

On utilise 6 rats de souche Fischer. Trois animaux numérotés de 1 à 3 sont holoxéniques. Leur âge est de 53 jours, et leur poids moyen de 181 g. Trois autres animaux (A, B, C) sont axéniques. Ils sont âgés de 49 jours et pèsent, en moyenne, 166 g.

Les rats sont disposés en cages individuelles, en isolateurs ou non selon qu'ils sont axéniques ou non.

Après avoir subi, pendant 48 heures, un jeûne solide afin de vider l'intestin du maximum des déchets provenant du régime antérieur, tous les animaux reçoivent le régime lipidoprive I pendant 5 jours. Pendant la période suivante (5 jours également) les Rats C et 3 reçoivent le même régime lipidoprive, tandis que les autres animaux reçoivent les régimes II ou III. Après cette période, tous les animaux sont soumis au régime lipidoprive pendant cinq jours, puis à un jeûne solide de 48 heures.

La quantité de matière sèche ingérée est contrôlée tous les jours, ainsi que l'excrétion fécale.

Avec ce protocole il nous est possible d'étudier :

- l'excrétion fécale endogène en régime lipidoprive sur 15 jours d'expérimentation (Rat C, Rat 3) ;
- l'ingestion et l'excrétion de l'acide palmitique en se plaçant à deux niveaux différents 5 et 10 p.100). Dans la mesure où l'ingestion est régulière, et en estimant que l'excrétion d'acides gras exogènes est

terminée le jour où les animaux retrouvent une excrétion fécale d'acides gras égale à celle enregistrée pendant la période où ils reçoivent le régime lipidoprive, il nous est possible d'étudier la cinétique de l'excrétion de l'acide palmitique en présence et en absence de flore.

C. RESULTATS EXPERIMENTAUX

1) Excrétion fécale de lipides endogènes

a) Généralités (tableau 3)

Chez les animaux C et B, qui sont soumis durant 15 jours au régime lipidoprive, on note :

- une ingestion de matières sèches alimentaires identique ;
- une excrétion fécale d'eau environ 2 fois plus importante chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique ;
- une excrétion fécale de matière sèche plus importante en absence de flore ;
- une utilisation digestive apparente (C.U.D.a.) de la ration plus faible chez le Rat axénique.

Ces observations d'un ordre général contribuent déjà à caractériser les deux types d'animaux en présence.

b) Aspects quantitatifs de l'excrétion fécale endogène de lipides

Pendant les quinze jours de bilan, le Rat axénique C excrète 0,386 g de lipides contre 0,523 g pour le Rat holoxénique B. Ceci représente 3,27 p.100 de lipides dans la matière sèche fécale en présence de flore, contre 1,62 p.100 en absence de flore (voir tableau 4).

La teneur en acides gras des lipides endogènes se situe dans les deux cas aux environs de 85 p.100.

Compte tenu du fait que la quantité de matière sèche fécale est beaucoup plus importante chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique, et que l'ingestion d'aliment, bien que très proche chez les deux types d'animaux est légèrement différente, nous avons pensé qu'il fallait rapporter les valeurs de l'endogène à un facteur constant. C'est pourquoi nous avons choisi de présenter ces données en fonction de la quantité de matière sèche ingérée, comme l'ont fait EVRARD et al. en 1964.

Nos observations laissent apparaître que le Rat holoxénique B a une excrétion de lipides et d'acides gras endogènes plus importante que le Rat axénique C, (tableau 4).

Les résultats obtenus pendant les périodes d'observation de 5 jours, avec les 4 autres animaux testés confirment les données présentées

Tableau 3. Contrôles d'ingestion et d'excrétion

Animaux	M.S.I. (g) (1)	M.S.I. (g/j) (1)	M.S.I. (g/j/100g de poids vif(1)	H2O Excrétion fécale (g)	H2O Excrétion fécale (g/j)	M.S.E. (g) (2)	C.U.D.a (p.100)(3)
Axénique C	246,3	16,42	9,03	43,24 [*]	2,88	23,78	90,53
Holoxénique 3	257,6	17,17	9,75	21,18 [*]	1,41	15,97	33,79

^{*}Teneurs moyennes en eau des fèces : 45,0 p.100 chez l'axénique contre 24,6 p.100 chez l'holoxénique

(1) M.S.I. = Matière sèche ingérée

(2) M.S.E. = Matière sèche excrétée

(3) C.U.D.a = Coefficient d'utilisation digestive apparent de la ration.

Tableau 4. Excrétion fécale de lipides

Animaux	M.S.F. (g) (1)	Lipides (p.100)	Lipides (g)	Acides gras (p.100)	Acides gras (g)	Acides gras mg/g de M.S.I. (2)
Axénique C	23,78	1,62	0,306	84	0,324	1,32
Holoxénique 3	15,97	3,27	0,523	86	0,450	1,74

(1) M.S.F. = Matière sèche fécale

(2) M.S.I. = Matière sèche ingérée.

dans ce paragraphe. Ceci nous amène à considérer ces valeurs comme étant des moyennes représentatives de l'excrétion fécale endogène de lipides en présence et en absence de flore.

L'importance des différences observées, et plus particulièrement l'influence de l'excrétion fécale d'acides gras endogènes sur la détermination des coefficients d'utilisation digestive des matières grasses, est discutée dans la conclusion de ce chapitre.

c) Aspects qualitatifs de l'excrétion fécale endogène d'acides gras

Les acides gras fécaux endogènes des Rats axéniques et holoxéniques ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse en utilisant une colonne polaire classique. La détermination de certains isomères a pu être réalisée grâce à l'utilisation des premières colonnes capillaires réalisées au laboratoire.

Nous avons également fait appel à l'hydrogénation catalytique des échantillons pour repérer ensuite avec sûreté les molécules saturées des molécules insaturées.

Des exemples de ces différents chromatogrammes sont présentés sur les graphiques 1, 2 et 3.

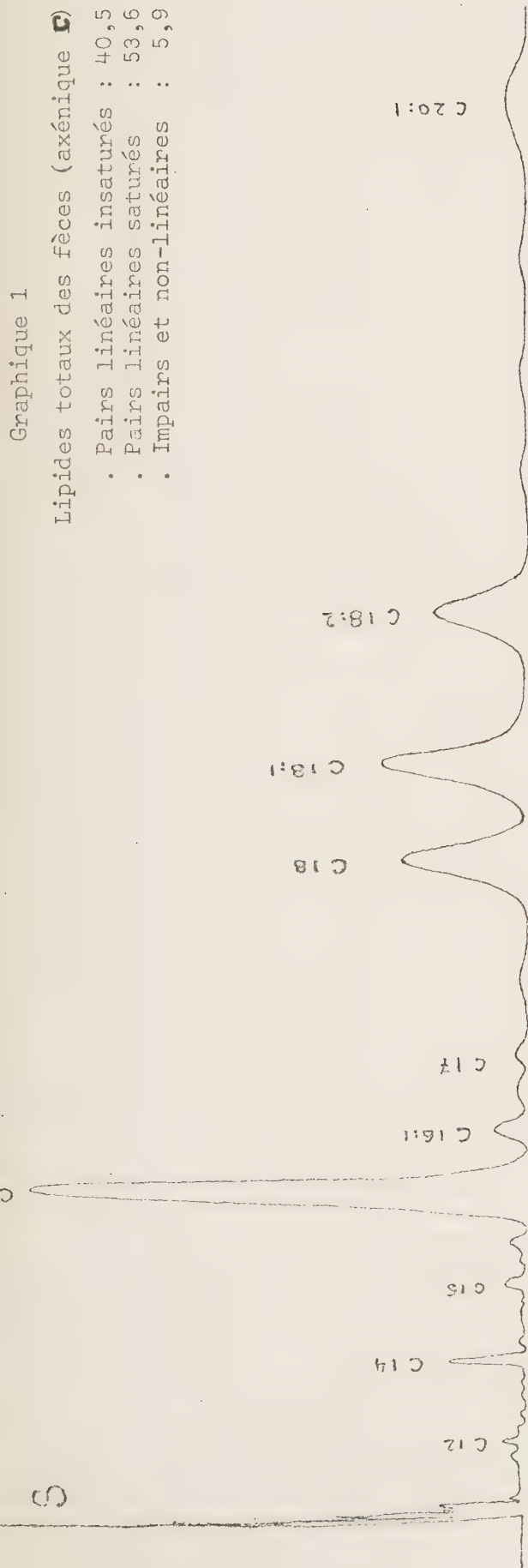
Quand on compare l'excrétion fécale en absence de flore (chromatogramme 1) à celle observée en présence d'une flore (chromatogramme 2) on peut déjà faire un certain nombre de remarques. On observe notamment :

- un nombre de pics plus élevé en présence d'une flore ;
- la présence d'une quantité beaucoup plus importante d'acides gras impairs et non déterminés dans les fèces provenant du Rat holoxénique. Les différences les plus importantes sont observées entre les acides myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) et avec une plus faible amplitude entre l'acide palmitique et l'acide stéarique (C18:0) ;
- que dans les deux cas, l'acide palmitique est l'acide gras excrété dans les plus fortes concentrations (environ 30 p.100) ;
- que les acides gras pairs et linéaires représentent 94 p.100 des acides gras endogènes dosés dans les fèces du Rat axénique, contre seulement 62 p.100 dans celles provenant du Rat holoxénique (il est pourtant à souligner que le volume d'échantillon injecté dans le chromatographe avait été plus grand dans le cas de l'axénique et que la sensibilité de l'appareil avait, de plus, été multipliée par 2) ;
- enfin, que l'excrétion endogène d'acides gras mono et poly-insaturés est également largement influencée par la flore gastro intestinale. La somme des concentrations des acides gras insaturés allant de C16 à C20, donne chez le Rat axénique 40,5 p.100 contre environ 22 p.100 chez le Rat holoxénique.

Graphique 1

Lipides totaux des fèces (axénique **2**)

- . Pairs linéaires insaturés : 40,5
- . Pairs linéaires saturés : 53,6
- . Impairs et non-linéaires : 5,9



Graphique 2

Lipides totaux des fèces (holoxénique **3**)

- . Pairs linéaires insaturés : 7,1
- . Pairs linéaires saturés : 55,9
- . Impairs et non-linéaires : 37,0



Lipides totaux des fèces (holoxéniques) après
hydrogénation.

- Pairs linéaires : 64,0
- Impairs et non-linéaires : 36,0



La comparaison des chromatogrammes 2 et 3 montre d'ailleurs clairement que l'aspect général du chromatogramme des acides gras endogènes du Rat holoxénique n'est que peu modifié par l'hydrogénation. On notera, à ce propos, que l'ensemble des acides gras impairs et indéterminés est très largement saturé puisque l'hydrogénation ne modifie en aucune façon leur comportement chromatographique.

En analysant les mêmes échantillons par chromatographie en phase gazeuse à l'aide de colonnes capillaires, il a été possible de montrer que tous les acides gras qui n'appartiennent pas à la série des acides gras pairs et linéaires peuvent être classés dans 3 séries distinctes :

- les acides gras impairs linéaires (C13, C15 et C17 principalement) ;
- les acides gras impairs ramifiés de forme iso et antéiso (surtout C15 et C17) ;
- les acides gras pairs ramifiés, toujours de forme iso.

Ces études montrent bien l'importance respective de ces acides gras dans les fèces des deux types d'animaux.

2) Aspects cinétiques de l'excrétion fécale de l'acide palmitique en présence et en absence de flore

Les résultats enregistrés avec les animaux axéniques **A** et **B**, et holoxéniques **1** et **2**, sont présentés dans le tableau 5. Nous avons reporté sur ce tableau les quantités d'acide palmitique ingérées et excrétées quotidiennement.

Les valeurs exprimées en pourcentage représentent les quantités d'acide palmitique ingérées ou excrétées quotidiennement, rapportées aux quantités totales ingérées ou excrétées. C'est à partir de ces données que nous avons pu tracer les courbes d'ingestion et d'excrétion présentées dans les graphiques 4 et 5.

L'ingestion quotidienne est régulière pendant les 5 jours chez les animaux A, B et 1 (valeurs peu différentes de 20 p.100). En revanche, chez le Rat 2, ingérant la ration à 5 p.100, l'ingestion varie avec une amplitude plus importante que chez les autres animaux.

Chez les animaux holoxéniques, on note que l'excrétion fécale d'acide palmitique est plus rapide que chez les animaux axéniques. Ainsi, après 6 jours d'expérience, alors qu'en absence de flore le Rat axénique **A** excrète 77 p.100 de la dose totale excrétée, le Rat holoxénique **1** en excrète environ 85 p.100.

On pourra bien remarquer les différences sur le graphique 4 en observant ce qui se passe avec une ingestion d'acide palmitique de 10 p.100 (ingestion plus régulière que 5 p.100). Avec une cinétique d'ingestion simi-



Tableau 7. Ingestion (I) et excrétion (E) d'acide palmitique

Animaux	Axénique A (10 p.100)				Axénique B (5 p.100)				Holoxénique 1 (10 p.100)				Holoxénique 2 (5 p.100)			
Jours	I (g)	I (p.100)	E (g)	E (p.100)	I (g)	I (p.100)	E (g)	E (p.100)	I (g)	I (p.100)	E (g)	E (p.100)	I (g)	I (p.100)	E (g)	E (p.100)
1	1,820	21,5	End.*	0,0	1,190	27,2	End.*	0,0	2,290	24,4	End.*	0,0	1,315	23,7	End.*	0,0
2	1,820	21,5	0,122	2,2	0,930	21,3	0,175	6,3	1,890	20,2	0,617	9,0	1,230	22,3	0,433	11,0
3	1,660	19,6	0,881	15,9	0,930	21,2	0,507	18,3	1,580	16,8	1,174	17,1	0,990	17,9	0,758	19,2
4	1,660	19,6	1,147	20,7	0,685	15,6	0,720	26,0	1,530	16,8	1,455	21,2	0,970	17,5	0,811	20,6
5	1,500	17,7	1,075	19,4	0,645	14,7	0,510	18,4	2,050	21,8	1,544	22,5	1,030	18,6	0,784	19,9
6	-	-	1,076	19,5	-	-	0,455	16,4	-	-	1,546	22,5	-	-	0,717	18,2
7	-	-	0,964	17,4	-	-	0,274	9,9	-	-	0,419	6,1	-	-	0,350	8,9
8	-	-	0,133	2,4	-	-	0,069	2,5	-	-	0,110	1,6	-	-	0,087	2,2
9	-	-	0,134	2,5	-	-	0,062	2,2	-	-	End.*	0,0	-	-	End.*	0,0
10	-	-	End.*	0,0	-	-	End.*	0,0	-	-	End.*	0,0	-	-	End.*	0,0
Total	8,460	100,0	5,532	100,0	4,380	100,0	2,772	100,0	9,390	100,0	6,845	100,0	5,535	100,0	3,940	100,0
C.U.D.a.	34,6				36,7				27,1				28,8			

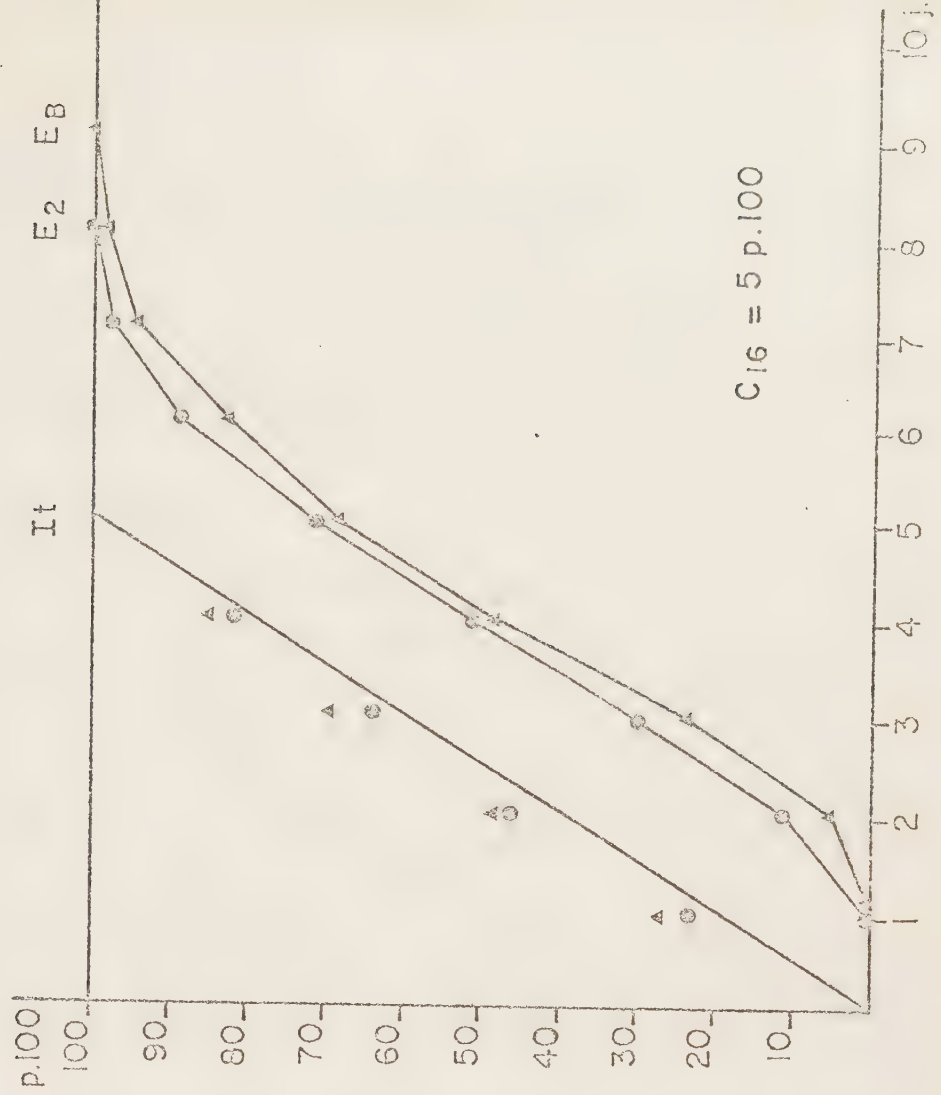
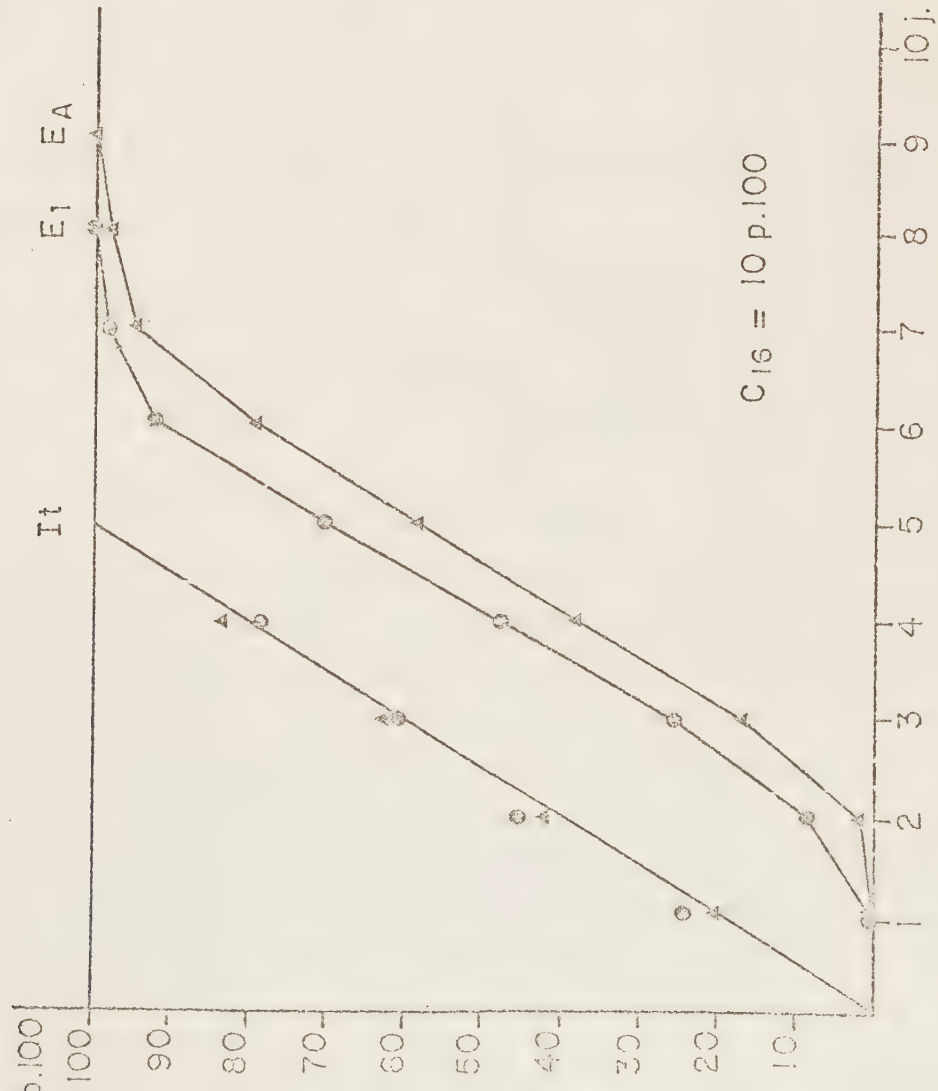
* End. : Excrétion lipidique fécale correspondant aux valeurs trouvées pour l'endogène en régime lipidoprive.

It = Droite d'ingestion théorique

E = Exorétion

$\bullet$ = Holoxénique

Δ = Axénique



laire, la courbe d'excrétion est nettement décalée vers la droite, dans le cas de l'animal axénique, ce qui traduit donc une vitesse d'excrétion plus lente.

On pourra également noter que l'absorption apparente de l'acide palmitique ingéré sous forme libre est très basse dans tous les cas, mais qu'elle a été meilleure chez les animaux axéniques.

D. INTERPRETATION DES RESULTATS

1) Excrétion fécale de matières grasses endogènes

EVARD et coll. (1964, 1965) rapportent des excrétions fécales endogènes d'acides gras peu différentes en présence et en absence de flore (respectivement 1,93 mg/g d'aliment ingéré contre 1,84 mg/g). Nos résultats (1,74 mg/g d'aliment contre 1,32 mg/g) confirment ces données. Cependant, le Rat holoxénique semble toujours présenter une excrétion endogène légèrement supérieure à celle observée chez le Rat axénique.

Compte tenu de ces résultats et si on admet que les deux types d'animaux ingèrent chaque jour 15 grammes d'un régime contenant 10 p.100 d'une matière grasse à 95 p.100 d'utilisation digestive réelle, nous pouvons réaliser le bilan suivant :

- lipides ingérés : $15 \times \frac{10}{100} = 1,5 \text{ g}$;
- lipides exogènes excrétés : $1,5 \times \frac{5}{100} = 0,075 \text{ g}$;
- lipides endogènes excrétés :
 - . axénique : $1,32 \times 15 = 20 \text{ mg}$ ou $0,020 \text{ g}$
 - . holoxénique : $1,74 \times 15 = 26 \text{ mg}$ ou $0,026 \text{ g}$
- l'excrétion fécale apparente de lipides sera donc :
 - . chez l'axénique : $0,075 + 0,020 = 0,095 \text{ g}$
 - . chez l'holoxénique : $0,075 + 0,026 = 0,101 \text{ g}$;
- les coefficients d'utilisation digestive apparente (C.U.D.a.) seront alors :
 - . chez l'axénique : $\frac{1,500 - 0,095}{1,500} = \frac{1,405}{1,500} = 93,66 \text{ p.100}$
 - . chez l'holoxénique : $\frac{1,500 - 0,101}{1,500} = \frac{1,399}{1,500} = 93,26 \text{ p.100}$

Ces calculs nous amènent à faire deux remarques fondamentales :

- . La première concerne l'utilité de faire intervenir les valeurs de l'excrétion endogènes obtenues en régime lipidoprive dans les calculs d'utilisation digestive des matières grasses.

Si nous tenons compte de ces données, par exemple chez le Rat holoxénique, on obtient un C.U.D. apparent de 93,26 p.100 contre un C.U.D. réel de 95 p.100. La différence, soit 1,74 p.100, représente une erreur relative de 1,83 p.100 ce qui doit être considéré comme négligeable face aux erreurs expérimentales inévitables dans ce genre d'investigations.

Si on emploie des matières grasses d'utilisations digestives plus basses et en supposant que l'excrétion fécale endogène ne soit pas quantitativement modifiée, la quantité d'acides gras endogènes devient tellement négligeable face à la forte excrétion d'acides gras d'origine exogène, que l'on peut systématiquement l'ignorer.

- . La deuxième remarque concerne les différences d'excrétions endogènes d'acides gras en présence et en absence de flore, et leurs répercussions sur l'estimation des différences d'absorption des matières grasses entre Rats axéniques et holoxéniques. Le calcul précédent montre bien qu'en émettant l'hypothèse selon laquelle la flore n'influence pas l'utilisation digestive réelle de la matière grasse étudiée, les faibles différences d'excrétion endogène d'acides gras ne sauraient différencier à elles seules l'absorption apparente de la matière grasse (93,66 p.100 contre 93,26 p.100).

Avec des matières grasses moins bien absorbées, les différences deviennent théoriquement encore plus faibles.

2) Cinétique d'excrétion de l'acide palmitique

Les quelques observations rapportées dans ce chapitre confirment bien le fait que le transit digestif est plus lent chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique. Les données bibliographiques sont donc vérifiées par l'étude du transit de l'acide palmitique.

CHAPITRE II

INFLUENCE DE LA FLORE GASTRO-INTESTINALE SUR L'UTILISATION DIGESTIVE APPARENTE D'UNE MA- TIERE GRASSE CONTENANT DES ACIDES GRAS ALLANT DE L'ACIDE LAURIQUE (C12:0) A L'ACIDE ERUCI- QUE (C22:1~~9~~)

A. INTRODUCTION

Les études que nous avons entreprises, par la suite, ont eu pour but de mesurer l'influence de la flore du tractus digestif sur l'absorption des différents acides gras alimentaires.

Certains auteurs comme FLANZY et coll. (1968), chez le Porc holo-xénique, et FAKAMBI et coll. (1969), chez le Rat holoxénique, ayant émis l'hypothèse que la faible utilisation digestive apparente de certains acides gras pouvait être due à la formation de savons insolubles dans l'intestin, nous avons également étudié l'influence de la flore sur la formation de ces composés.

Pour la réalisation de ce travail nous avons cherché à synthétiser, à l'aide de plusieurs matières grasses de compositions en acides gras connues, un mélange A permettant de couvrir toute la série des acides gras à chaînes moyennes et longues classiquement rencontrés dans l'alimentation. Nous nous sommes efforcés, dans la mesure du possible, d'éviter les gros déséquilibres de concentration des acides gras les uns par rapport aux autres.

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Alimentation et régime

La composition centésimale du régime semi-synthétique, qui a été fourni aux animaux, est rapportée dans le tableau 6. Il contient 13,3 p.100 de matière grasse (mélange A) et environ 15 p.100 de protéines.

Tableau 6.- Composition centésimale du régime

Caséine lactique	17,7
Amidon de maïs	56,7
Matière grasse A	13,3
Cellulose	5,4
Sels minéraux	4,8
Vitamines et acides aminés complémentaires	2,1

La composition centésimale du mélange de matières grasses A est rapportée dans le tableau 7. Les matières grasses utilisées ont été choisies en fonction de leur composition en acides gras. Nous avons ainsi sélectionné :

- l'huile de coprah pour sa richesse en acides gras à chaîne moyenne (C12:0, C14:0) ;
- l'huile de colza pour sa teneur en acides gras très longs et insaturés (C22:1 principalement) ;
- l'huile de colza hydrogénée pour sa richesse en acides gras très longs et saturés (C22:0 principalement) ;
- le beurre de cacao pour sa teneur en acides gras longs et saturés (C16:0, C18:0) ;
- l'huile de coton pour sa richesse en acides gras longs et insaturés (C18:1, C18:2).

Pour ce qui concerne les concentrations de chaque matière grasse dans le mélange, nous avons effectué plusieurs essais et retenu le mélange présenté dans le tableau 7. Il nous a permis d'obtenir une graisse finale solide à la température ambiante et dont la composition en acides gras est rapportée dans le tableau 8. Il contient la même quantité d'acides gras saturés et longs ($\geq$ C14:0) que d'acides gras à chaîne moyenne et d'acides gras insaturés. De plus, ce mélange permet d'éviter les gros déséquilibres de concentration entre les différents acides gras.

Tableau 7.- Composition du mélange de matières grasses A
(p.100 en poids)

Huile de coprah	30
Huile de colza	20
Colza hydrogéné	20
Beurre de cacao	20
Huile de coton	10

Tableau 8.- Composition en acides gras du mélange de matières grasses A
(p.100 des esters méthyliques dosés).

C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C22:0	C22:1
15,5	6,8	12,7	16,5	15,7	9,8	4,6	8,4	10,0

Traces de C18:3 < 1,0 p.100

Avant le début de la période de bilan, le régime est distribué aux animaux pendant trois semaines. Pendant les sept jours de bilan, la consommation alimentaire est supérieure chez les animaux axéniques (voir tableau 10).

2) Animaux

Le tableau 9 rapporte les caractéristiques des rats Fischer utilisées dans cette recherche. Il s'agit de jeunes animaux mâles âgés d'environ 2 mois (8 semaines) au début de la période de bilan. Les poids des animaux sont identiques dans les deux lots.

Tableau 9.- Caractéristiques des animaux

Périodes	Axéniques		Holoxéniques	
	Age (j)	Poids (g)	Age (j)	Poids (g)
1ère adaptation au régime	36	86,5 ± 1,0	36	84,1 ± 1,4
Début de bilan	57	164,2 ± 1,9	57	158,7 ± 3,6
Fin d'expérience	64	190,2 ± 2,6	64	182,2 ± 5,0

C) RESULTATS EXPERIMENTAUX

1) Excrétion fécale et utilisation digestive apparente de la ration

L'excrétion fécale de matière sèche est supérieure chez les animaux axéniques, mais ceci est en relation avec une ingestion plus importante d'aliments. Pour ce qui concerne l'utilisation digestive apparente de la ration, les valeurs enregistrées sont légèrement supérieures chez les animaux holoxéniques (tableaux 10 et 11).

Tableau 10.- Contrôle des ingesta pendant la période de bilan

Matières	Axéniques (g)	Holoxéniques (g)
Matières sèches	79,9 $\pm$ 1,1	68,1 $\pm$ 4,9
Matières grasses	10,5 $\pm$ 0,1	9,0 $\pm$ 0,5

Tableau 11.- Excrétion fécale de matière sèche et utilisation digestive de la ration

Animaux	Axéniques	Holoxéniques
Matière sèche excrétée (g)	14,5 $\pm$ 0,2	11,0 $\pm$ 0,6
C.U.D.a. de la ration (%)	81,8 $\pm$ 0,3*	85,0 $\pm$ 0,2*

*Différence entre les deux valeurs statistiquement significative au seuil $p = 0,05$.

2) Excrétion fécale de lipides

Le tableau 12 rapporte les concentrations respectives en lipides sous forme soluble, insoluble et en lipides totaux dans les matières sèches fécales.

Tableau 12.- Concentrations en lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I.) dans les matières sèches fécales (p.100)

Fractions	Animaux	
	Axéniques	Holoxéniques
F.S.	15,8 $\pm$ 0,5	8,5 $\pm$ 0,3
F.I.	3,9 $\pm$ 0,6	20,0 $\pm$ 1,1
Lipides totaux	19,7 $\pm$ 0,5	28,6 $\pm$ 1,1

On notera que les Rats axéniques ont des fèces présentant des concentrations en lipides totaux plus faibles que leurs homologues holoxéniques (19,7 $\pm$ 0,5 p.100 contre 28,6 $\pm$ 1,1 p.100). De plus, la réparti-

des lipides fécaux entre les formes "soluble" et "insoluble" sont différentes dans les deux lots. Chez les animaux axéniques, 20 p.100 des lipides fécaux sont présents sous forme insoluble, contre environ 70 p.100 chez les animaux holoxéniques. Pour ce qui concerne la matière grasse A, la forme insoluble est donc la forme majeure d'excrétion fécale des lipides chez le Rat holoxénique, et la forme mineure chez le Rat axénique.

3) Composition en acides gras des différentes fractions de lipides fécaux

Nous avons rapporté dans le tableau 13 les valeurs moyennes que nous avons enregistrées.

Tableau 13.- Composition en acides gras des différentes fractions de lipides fécaux
(p.100 des esters méthyliques dosés)

Animaux	Fractions	Acides gras								
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C22:0	C22:1
Axéniques	F.S.	4,6	4,9	17,2	25,0	3,7	< 1	6,8	25,2	12,6
	F.I.	3,3	5,6	16,8	27,6	3,4	< 1	7,9	27,1	8,3
Holoxéniques	F.S.	9,3	6,9	17,3	17,3	9,3	< 1	4,8	11,4	23,7
	F.I.	2,5	3,5	17,2	29,5	2,4	< 1	7,3	28,7	8,9

On note tout d'abord que chez les animaux axéniques, les lipides fécaux qu'ils soient sous forme soluble ou sous forme insoluble, ont des compositions en acides gras identiques. Chez les animaux holoxéniques, il n'en est pas de même et la composition en acides gras de la fraction insoluble se différencie de celle de la fraction soluble par une plus grande richesse en acides gras longs et saturés (en particulier en acides stéarique C18:0 et béhénique C22:0).

Les compositions en acides gras des fractions soluble et insoluble obtenues chez les animaux axéniques et celle de la fraction insoluble obtenue chez les animaux holoxéniques sont similaires.

4) Etude quantitative de l'excrétion fécale d'acides gras

Le tableau 14 rapporte les quantités de chaque acide gras excrété sous forme insoluble et la quantité totale d'acides gras excrétés dans les différents lots.

Tableau 14.- Quantités d'acides gras excrétés. Extrait total (E.T.). Fraction insoluble (F.I.). Valeurs moyennes exprimées en grammes

Animaux	Fractions	Acides gras								
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C10:0	C22:0	C22:1
Axéniques	E.T.	0,13	0,14	0,49	0,73	0,11	traces	0,21	0,74	0,34
	F.I.	0,02	0,03	0,09	0,15	0,02	traces	0,05	0,16	0,04
Holoxéniques	E.T.	0,13	0,13	0,50	0,75	0,13	traces	0,18	0,68	0,40
	F.I.	0,05	0,07	0,35	0,60	0,06	traces	0,14	0,55	0,19

Le tableau 15 présente le pourcentage de chaque acide gras trouvé dans les fèces, excrété sous forme insoluble

On notera que, chez tous les animaux, les acides gras excrétés dans les plus grandes quantités sont les acides palmitique (C16:0), stéarique (C18:0), béhénique (C22:0) et érucique (C22:1). Dans tous les cas, on observe une excrétion quasiment nulle d'acide linoléique (C18:2).

Chaque acide gras excrété ne se répartit pas de la même façon entre les fractions soluble et insoluble chez le Rat axénique et chez le Rat holoxénique. Le tableau 15 nous permet de quantifier le phénomène.

En absence de flore, tous les acides gras, quelle que soit leur longueur de chaîne et leur degré d'insaturation se répartissent à peu près de la même façon entre les deux formes d'excrétion. Les pourcentages d'acides gras présents sous forme insoluble sont situés pour tous les acides aux environs de 20 p.100.

Chez les Rats holoxéniques, la répartition varie en fonction de la longueur de la chaîne et en fonction du degré d'insaturation. Ainsi, de C12:0 à C22:0, le pourcentage de chaque acide gras fécal excrété sous forme insoluble va varier de 40 à 80 p.100. L'acide oléique (C18:1) va se répartir entre les deux formes comme l'acide laurique (C12:0).

5) Utilisation apparente de la matière grasse A.

La matière grasse A est une matière grasse très saturée (50 p.100 d'acides gras longs saturés) et de plus, riche en acide gras très longs (> C18:0). Elle est solide à la température ambiante. On pouvait donc prévoir, dès la réalisation du protocole expérimental, que l'utilisation digestive apparente d'un tel produit serait médiocre, voire même mauvaise.

Tableau 15. Evolution du rapport $\frac{\text{fraction insoluble (g)}}{\text{extrait total (g)}} \times 100$
en fonction du type d'acide gras.

Animaux	Acides gras									
	C12	C14	C16	C16	C18	C18:1	C18:2	C20	C22	C22:1
Axéniques	17,3 $\pm$ 8,4	22,9 $\pm$ 2,3	19,0 $\pm$ 2,4	20,0 $\pm$ 2,4	17,7 $\pm$ 2,0	-	-	22,3 $\pm$ 3,5	21,9 $\pm$ 4,2	13,2 $\pm$ 2,1
Holoxéniques	39,2 $\pm$ 3,5	52,6 $\pm$ 2,2	67,4 $\pm$ 1,7	79,1 $\pm$ 1,7	42,0 $\pm$ 4,4	-	-	76,5 $\pm$ 2,4	61,2 $\pm$ 4,4	50,7 $\pm$ 7,2

Les résultats rapportés dans le tableau 16 confirment cette hypothèse. L'absorption, dans les meilleures conditions, n'est, en effet, que de 73 p.100 environ.

Tableau 16.- Utilisation digestive apparente de la matière grasse A.C.U.D.a.(p.100).

Animaux	C.U.D.a.
Axéniques	72,7 $\pm$ 1,0*
Holoxéniques	68,0 $\pm$ 1,4*

*Différence entre les deux valeurs statistiquement significative au seuil $p = 0,05$.

L'utilisation digestive apparente de la matière grasse A est, cependant, meilleure chez les animaux axéniques que chez les animaux holoxéniques. Les écarts entre les 2 lots sont faibles (variation relative de 6,9 p.100), mais sont, néanmoins, significatifs.

6) Utilisation digestive apparente des acides gras de la matière grasse A

Dans les deux lots d'animaux, et comme ceci a déjà été rapporté par de nombreux auteurs, l'utilisation digestive apparente des divers acides gras diminue avec la longueur de la chaîne carbonée et augmente avec le degré d'insaturation de la molécule. Ainsi, l'acide laurique (C12:0) est mieux absorbé que l'acide stéarique (C18:0), qui est lui-même mieux absorbé que l'acide béhénique (C22:0). L'acide oléique (C18:1) est presque deux fois mieux absorbé que l'acide stéarique (C18:0) (tableau 17).

La présence d'une flore gastro-intestinale ne modifie pas l'absorption apparente de l'acide laurique (C12:0) et ne modifie pas ou peu celle de l'acide myristique (C14:0). Elle ne modifie pas non plus celles des acides gras à chaîne très longue et saturée (C20:0 et C22:0).

En revanche, chez le Rat axénique, l'utilisation digestive apparente des acides gras saturés à chaîne longue (C16:0 et C18:0) est nettement améliorée par rapport à ce qui est observé chez le Rat holoxénique. Ainsi, l'amélioration relative de l'absorption est de 13,7 p.100 pour l'acide palmitique (C16:0) et de 14,2 p.100 pour l'acide stéarique (C18:0). Dans le cas de l'acide oléique (C18:1), déjà bien absorbé chez le Rat holoxénique, l'utilisation digestive apparente paraît être légèrement améliorée par l'état axénique, mais les différences sont à la limite de la signification statistique.

Tableau 17.- Utilisation digestive apparente des acides gras (p.100)

Animaux	Acides gras									
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C22:0	C22:1	
Axéniques	92,1 ± 0,8	82,3 ± 2,6	63,0 ± 2,1	57,1 ± 1,5	94,1 ± 2,6	100	55,5 ± 2,5	12,6 ± 4,4	65,5 ± 3,0	
Holoxéniques	90,7 ± 0,8	79,2 ± 0,9	55,4 ± 1,9	50,0 ± 2,5	90,9 ± 2,4	100	54,8 ± 2,7	11,4 ± 5,3	58,4 ± 6,3	
Différences	N.S.	N.S.	p ≤ 0,05	p ≤ 0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	

D. INTERPRETATION DES RESULTATS

. L'utilisation digestive apparente de la matière grasse A est médiocre chez tous les animaux. Ceci s'explique par le fait qu'elle contient une quantité importante d'acides gras mal absorbés.

. Les Rats axéniques absorbent mieux cette matière grasse que leurs homologues holoxéniques. Nos résultats confirment donc ceux de BOYD et EDWARDS (1967) obtenus chez le Poulet en leur faisant ingérer un régime contenant 6 p.100 d'une matière grasse saturée : le suif. Cependant, les améliorations rapportées par ces auteurs sont supérieures à celles que nous avons obtenues. Mais nous devons rappeler que le suif ne comporte pas d'acides gras saturés très longs ($> C18$).

. Si on compare nos propres résultats à ceux obtenus par les auteurs ayant employé des huiles très insaturées (EVRARD et al., 1964 ; YOSHIDA et al., 1968), on remarque que l'amélioration relative de l'absorption obtenue en l'absence de flore est plus grande dans le cas de l'ingestion de graisse saturée plutôt que des graisses insaturées.

. Ces données sont en relation avec ce qui est observé au niveau de l'utilisation digestive de chacun des acides gras. Les C.U.D.a. des acides laurique ($C12:0$) et myristique ($C14:0$) ne paraissent pas être notablement influencées par l'état axénique. La flore gastro-intestinale ne semble pas non plus influencer l'utilisation digestive des acides gras insaturés. Il apparaît que l'influence se situe surtout au niveau des acides gras saturés en $C16$ et $C18$ (palmitique et stéarique). Pour les acides gras très longs, l'influence semble nulle.

. Fait nouveau et intéressant, il semble que la synthèse intraluminaire de savons insolubles est influencée par la présence d'une flore gastro-intestinale. Les tableaux 18 et 19 montrent quel pourcentage de matière grasse et de chaque acide gras ingéré est retrouvé sous forme insoluble dans les fèces.

Tableau 18.- Pourcentage de la matière grasse ingérée excrétée sous forme insoluble dans les fèces (p.100).

Animaux	Pourcentages
Axéniques	5,38 $\pm$ 0,78
Holoxéniques	23,41 $\pm$ 3,59

Tableau 19.- Pourcentage de chaque acide gras ingéré excrété sous forme insoluble dans les fèces (p.100).

Animaux	Acides gras							
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C20:0	C22:0	C22:1
Axéniques	1,30 ± 0,68	4,40 ± 0,63	7,09 ± 1,08	8,83 ± 1,23	1,20 ± 0,14	9,98 ± 1,83	15,90 ± 3,61	4,23 ± 0,85
Holoxéniques	3,52 ± 0,33	11,41 ± 0,96	30,67 ± 2,00	39,41 ± 2,59	3,49 ± 0,57	35,31 ± 3,05	75,57 ± 4,66	19,98 ± 4,44

On notera que, chez le Rat holoxénique, le pourcentage de graisse ingérée qui sera excrétée sous forme insoluble est cinq fois plus important que chez le Rat axénique.

Pour ce qui concerne les acides gras, on observe des différences très importantes à la fois entre types d'animaux et types d'acides gras. D'une façon très générale, tous les acides gras ingérés ont tendance à être excrétés en plus fort pourcentage sous forme insoluble chez les animaux holoxéniques. Les facteurs de multiplication de la synthèse des savons insolubles varient selon les acides gras entre 2 et 5. Ils sont les plus forts pour les acides gras longs et saturés et pour tous les types d'acides gras très longs ($> C18$).

CHAPITRE III

INFLUENCE DE LA FLORE DU TRACTUS DIGESTIF SUR L'UTILISATION DIGESTIVE APPARENTE D'UNE MATIERE GRASSE CONTENANT DES ACIDES GRAS ALLANT DE L'ACIDE LAURIQUE (C12:0) A L'ACIDE LINOLEIQUE (C18:2)

A. INTRODUCTION

Avec la matière grasse A, il a été possible de montrer que la flore du tractus digestif n'avait pas la même influence sur l'utilisation digestive de tous les acides gras. Cette matière grasse présente néanmoins un inconvénient majeur : sa mauvaise digestibilité. Cette mauvaise absorption apparente est liée en grande partie à la présence dans le mélange d'une quantité importante d'acides gras saturés très longs ($> C18$) de C.U.D.a. très bas. De plus, ces acides gras formant une quantité très importante de savons insolubles pendant la durée du transit, peuvent perturber les processus "normaux" de la digestion et de l'absorption des autres acides gras.

De nouvelles études s'imposaient donc afin de vérifier en particulier si les différences d'absorption des acides gras décrites précédemment étaient indépendantes de la composition du mélange de matière grasse ingérée. C'est pourquoi, nous avons réalisé un autre mélange de matières grasses B en éliminant de sa fabrication les sources d'acides gras à chaîne très longue. Nous nous sommes ensuite livré à de nouvelles études comparatives de digestibilité chez le Rat, en présence et en absence de flore.

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Régime et alimentation

La composition du régime a déjà été présentée au chapitre deuxième (tableau 6). La composition centésimale du mélange B est rapportée dans le tableau 20. On a éliminé de sa fabrication les huiles de colza et de colza hydrogéné (sources de chaînes très longues saturées et insaturées).

Tableau 20.- Composition du mélange de matières grasses B (en p.100 en poids)

Huile de coprah	25
Huile de coton	25
Huile de cacao	50

La composition en acides gras de ce mélange est rapportée dans le tableau 21. Il contient environ 50 p.100 d'acides gras longs et saturés, principalement sous forme d'acides palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0). Ce mélange est solide à température ambiante.

Tableau 21.- Composition en acides gras du mélange de matières grasses B (p.100 des esters méthyliques dosés).

C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
15,4	6,2	23,6	19,8	29,3	5,7

2) Animaux

En début de bilan, les animaux sont âgés d'environ 5 semaines. Ils pèsent entre 80 et 110 g et ont une croissance quotidienne (avec le régime expérimental) de 4,5 g environ par jour (tableau 22).

Tableau 22.- Caractéristiques des animaux

Axéniques			Holoxéniques		
Age (j)*	Poids (g)*	Croissance moyenne (g/j)	Age (j)*	Poids (g)*	Croissance moyenne (g/j)
36	89,4 [±] 2,0	4,47	38	101,8 [±] 2,4	4,41

*En début d'expérience.

Deux lots de 6 animaux sont constitués. Un des deux lots est axénique.

Les analyses sont réalisées sur des échantillons de matières fécales récoltées sur deux périodes de bilan de 7 jours (I et II). Les collectes sont regroupées par lots de 3 rats. Nous analysons donc les résultats de 8 répétitions :

- 4 provenant d'animaux axéniques (ABC (I), ABC (II), DEF (I), DEF (II) ;
- 4 provenant d'animaux holoxéniques : 1, 2, 3 (I), 1, 2, 3 (II), 4, 5, 6 (I) 4, 5, 6 (II).

C. RESULTATS EXPERIMENTAUX

1) Excrétion fécale et utilisation digestive apparente de la ration

Pendant la première période de bilan, les animaux holoxéniques ingèrent une quantité d'aliment plus importante que leurs homologues holoxéniques. Pendant la seconde période de bilan les ingestions sont identiques (tableau 23).

Tableau 23.- Contrôle des ingesta pendant les périodes de bilan

Matières	Axéniques (g)				Holoxéniques (g)			
	1,2,3 (I)	4,5,6 (I)	1,2,3 (II)	4,5,6 (II)	A,B,C (I)	D,E,F (I)	A,B,C (II)	D,E,F (II)
Matières sèches	128,5	118,7	199,2	195,4	141,3	146,6	187,2	226,3
Matière grasse	17,1	15,8	26,5	26,0	18,8	19,5	24,8	30,1

L'utilisation digestive apparente de la ration est semblable dans les deux lots (tableau 24).

Tableau 24.- Excrétion fécale de matière sèche et utilisation digestive de la ration

Animaux	Axéniques				Holoxéniques			
	1,2,3 (I)	4,5,6 (I)	1,2,3 (II)	4,5,6 (II)	A,B,C (I)	D,E,F (I)	A,B,C (II)	D,E,F (II)
Matière sèche excrétée (g)	17,9	17,3	32,0	30,1	20,4	19,9	25,3	28,0
C.U.D.a. de la ration (%)	86,1	85,4	83,9	84,6	85,6	86,4	86,5	87,6
C.U.D.a. de la ration (valeurs moyennes)	85,0 ± 0,5*				86,5 ± 0,4*			

*Différence non statistiquement significative au seuil $p \leq 0,05$

2) Excrétion fécale de lipides

Le tableau 25 permet de constater que les animaux holoxéniques présentant des fèces dont la concentration en lipides est nettement plus élevée que dans le cas des animaux axéniques.

Tableau 25.- Concentrations en lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I.) dans les matières sèches fécales (p.100)

Fractions	Animaux	
	Axéniques	Holoxéniques
F.S.	5,5 $\pm$ 0,4	6,7 $\pm$ 0,5
F.I.	5,5 $\pm$ 0,4	12,2 $\pm$ 0,7
Lipides totaux	11,0 $\pm$ 0,4	18,9 $\pm$ 0,7

La concentration en lipides sous forme insoluble est plus de deux fois supérieure dans le lot holoxénique à ce qu'elle est dans le lot axénique. Pour ce qui concerne les lipides sous forme soluble, les concentrations sont très proches dans les deux cas.

Comme nous avons pu l'observer avec le mélange de matières grasses A, la forme insoluble est la forme d'excrétion fécale la plus importante (65 p.100) chez le Rat holoxénique. En revanche, chez le Rat axénique, les lipides fécaux, en cas d'ingestion du mélange de matières grasses B, se répartissent également entre les forme solubles et insolubles à la différence de ce qui était observé avec la matière grasse A.

3) Composition en acides gras des différentes fractions de lipides fécaux

Les compositions en acides gras des différentes fractions sont rapportées dans le tableau 26. On notera tout d'abord que les fractions solubles ont des compositions très voisines dans les deux lots. Il en est de même avec les fractions insolubles.

Tableau 26.- Composition moyenne en acides gras des différentes fractions des lipides fécaux (p.100 des esters méthyliques dosés).

Animaux	Fractions	Acides gras					
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques	F.S.	5,3	6,9	36,5	36,6	11,2	3,5
	F.I.	3,8	5,3	38,9	46,9	3,8	1,2
Holoxéniques	F.S.	4,2	5,6	39,1	36,8	12,5	1,8
	F.I.	2,2	4,7	38,9	48,4	5,0	0,9

Les fractions solubles se différencient dans tous les cas par des concentrations plus faibles en acide stéarique (C18:0) et plus élevées en acide oléique (C18:1) que dans les fractions insolubles.

Là encore, les résultats rapportés avec la matière grasse B sont différents de ce que nous avons pu observer dans le chapitre précédent.

4) Etude quantitative de l'excrétion fécale d'acides gras

Les résultats sont présentés de la même façon que dans le chapitre précédent sur les tableaux 27 et 28.

Tableau 27.- Quantité moyenne d'acides gras excrétés - Extrait total (E.T.) - Fraction insoluble (F.I.)
Valeurs exprimées en grammes

Animaux	Fractions	Acides gras					
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques	E.T.	0,12	0,16	1,02	1,17	0,18	0,03
	F.I.	0,05	0,07	0,55	0,68	0,05	-
Holoxéniques	E.T.	0,12	0,21	1,73	1,97	0,33	0,06
	F.I.	0,05	0,12	1,10	1,37	0,15	-

Tableau 28.- Evolution du rapport $\frac{\text{fraction insoluble (g)}}{\text{extrait total (g)}} \times 100$
en fonction du type d'acide gras

Animaux	Acides gras					
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques	39,86 $\pm$ 7,2	43,57 $\pm$ 6,01	53,01 $\pm$ 2,52	57,48 $\pm$ 2,84	24,84 $\pm$ 2,28	-
Holoxéniques	45,45 $\pm$ 5,8	57,27 $\pm$ 1,45	64,71 $\pm$ 3,36	70,78 $\pm$ 3,02	40,87 $\pm$ 7,3	-
Différences	N.S.	N.S.	p $\leq$ 0,05	p $\leq$ 0,05	N.S.	-

On peut noter que chez tous les animaux, les acides gras excrétés en plus grandes quantités sont les acides palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0).

Les acides gras excrétés se répartissent différemment selon les fractions solubles et insolubles en fonction de leur longueur de chaîne et de leur degré d'insaturation. Les acides gras saturés et longs sont excrétés principalement sous forme insoluble et le phénomène est observé chez les deux types d'animaux. Cependant, tous les acides gras ont tendance à être excrétés en plus grande proportion sous forme insoluble chez les Rats holoxéniques.

5) Utilisation digestive apparente de la matière grasse B

La matière grasse B est une matière grasse très saturée, comportant environ 45 p.100 d'acide palmitique et stéarique. Son utilisation digestive doit donc logiquement être plus faible que celle des huiles riches en acides gras insaturés ou des matières grasses contenant de grandes quantités d'acides gras à chaîne courte ou moyenne. Cependant, l'absorption de cette matière grasse doit être meilleure que celle du mélange A, puisque les acides gras saturés à chaîne très longue et de très mauvais C.U.D.a. n'y sont pas représentés.

Les résultats sont rapportés dans le tableau 29. L'absorption apparente de la matière grasse B est, dans les meilleures conditions, d'environ 88 p.100, alors qu'avec la matière grasse A elle n'était que de 70 p.100. L'augmentation relative de l'absorption liée à la composition en acides gras du mélange a donc été de 19,2 p.100.

Tableau 29.- Utilisation digestive apparente de la matière grasse B.C.U.D.a. (p.100)

Animaux	C.U.D.a. (p.100)
Axéniques	87,7 $\pm$ 0,80 *
Holoxéniques	80,8 $\pm$ 1,13*

*Différence entre les deux valeurs statistiquement significatives au seuil $p = 0,01$

L'utilisation digestive apparente de la matière grasse B est meilleure chez les animaux axéniques que chez les animaux holoxéniques. L'amélioration relative de l'absorption est de 8,6 p.100.

Tableau 30.- Utilisation digestive apparente des acides gras (p.100)

Animaux	Acides gras					
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques	96,3 $\pm$ 0,2	87,9 $\pm$ 1,0	80,0 $\pm$ 1,3	73,2 $\pm$ 3,0	96,8 $\pm$ 0,1	100,0
Holoxéniques	97,1 $\pm$ 0,2	85,5 $\pm$ 1,3	68,2 $\pm$ 1,5	57,5 $\pm$ 2,9	95,1 $\pm$ 0,5	100,0
Différences	N.S.	N.S.	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	N.S.	N.S.

Tableau 30.- Utilisation digestive apparente des acides gras (p.100)

Animaux	Acides gras						
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	
Axéniques	96,3 ± 0,2	87,9 ± 1,0	80,0 ± 1,3	73,2 ± 3,0	96,8 ± 0,1	100,0	
Holoxéniques	97,1 ± 0,2	85,5 ± 1,3	68,2 ± 1,5	57,5 ± 2,9	95,1 ± 0,5	100,0	
Différences	N.S.	N.S.	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	N.S.	N.S.	

6) Utilisation digestive apparente des acides gras

Dans les 2 lots, et comme nous l'avons vu dans les expériences précédentes, l'utilisation digestive apparente des acides gras diminue avec la longueur de la chaîne carbonée et augmente avec son degré d'insaturation (tableau 30).

La présence d'une flore dans le tractus digestif ne modifie pas l'absorption de l'acide laurique (C12:0) et des acides gras insaturés en C18. L'influence de la flore gastro-intestinale commence à se faire sentir au niveau de l'acide myristique (C14:0) mais ne devient vraiment significative que pour les acides palmitique et stéarique (C16:0 et C18:0). Pour le premier, l'amélioration relative de l'absorption est de 17,4 p.100 et pour le second, elle est de 27 p.100.

D. INTERPRETATION DES RESULTATS - COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS AVEC LES MATIERES GRASSES A ET B

. Les animaux axéniques absorbent mieux la matière grasse B que les animaux holoxéniques.

. Cette amélioration est en relation avec une augmentation importante de l'absorption des acides palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0).

. Les animaux holoxéniques excrètent, lorsqu'ils ingèrent la matière grasse B, environ deux fois plus de savons insolubles que leurs homologues axéniques. Dans les fèces des animaux axéniques, la forme insoluble représente 50 p.100 de l'ensemble des lipides excrétés alors que chez les animaux holoxéniques elle représente environ 65 p.100.

En se reportant aux tableaux 31 et 32 on notera que 12,5 p.100 de la matière grasse B ingérée est excrétée sous forme de savons insolubles en présence d'une flore intestinale. Chez l'animal dépourvu de flore ce chiffre est de 6 p.100. Pour ce qui concerne les acides gras, on note que l'influence la plus nette se situe au niveau des acides gras saturés et longs (C16:0 et C18:0). Le pourcentage de la quantité de ces acides gras ingérés, excrétés sous forme insoluble chez l'axénique est deux fois plus faible que chez l'holoxénique.

Tableau 31.- Pourcentage de la matière grasse ingérée excrétée sous forme insoluble (p.100)

Animaux	Pourcentages
Axéniques	6,09 $\pm$ 0,34
Holoxéniques	12,45 $\pm$ 1,06

Tableau 32.- Pourcentage de chaque acide gras ingéré excrété sous forme insoluble (p.100)

Animaux	Acides gras					
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques	1,56 $\pm$ 0,78	5,25 $\pm$ 0,77	10,60 $\pm$ 0,84	15,22 $\pm$ 1,46	0,78 $\pm$ 0,10	-
Holoxéniques	1,52 $\pm$ 0,22	8,30 $\pm$ 0,91	21,47 $\pm$ 1,42	33,49 $\pm$ 1,89	2,19 $\pm$ 0,23	-
Différences	N.S.	p $\leq$ 0,05	p $\leq$ 0,01	p $\leq$ 0,01	p $\leq$ 0,01	

C'est avec la matière grasse B que les C.U.D. apparents les plus élevés sont enregistrés. Ceci peut être expliqué par le fait que les deux matières grasses que nous avons utilisées diffèrent entre elles par leur composition en acides gras. En effet, la matière grasse A contient des acides gras très longs ($\geq C20$), très difficilement absorbés.

Les Rats axéniques absorbent mieux les matières grasses que les Rats holoxéniques. La tendance qui se dégage en analysant les résultats obtenus avec la matière grasse A se trouve confirmée par l'analyse des valeurs des C.U.D.a. obtenus avec la matière grasse B.

Nos résultats confirment ceux de BOYD et EDWARDS (1967) obtenus chez le Poulet ingérant un régime comportant 6 p.100 de suif. En l'absence de flore intestinale, l'utilisation digestive des matières grasses saturées paraît être sensiblement améliorée, surtout lorsque celles-ci ne contiennent pas d'acides gras ayant plus de 18 atomes de carbone.

Si l'on compare nos résultats à ceux de EVRARD et coll. (1964) ou de YOSHIDA et coll. (1968), on note que les améliorations des C.U.D. apparents obtenus avec des matières grasses saturées du type B (87,7 p.100 contre 80,8 p.100 en présence d'une flore intestinale) sont supérieures à celles obtenues avec des matières grasses insaturées. Il semble donc que les résultats obtenus par BOYD et EDWARDS chez le Poulet (1967) soient confirmés chez le Rat : les C.U.D.a. sont nettement améliorés lorsque les animaux ingèrent des graisses saturées telles que la matière grasse B ou le suif, plutôt que lorsqu'ils ingèrent des lipides très insaturés.

Ces données sont en relation avec les résultats que nous enregistrons avec nos deux régimes et lorsque nous analysons les C.U.D.a. apparents de chaque acide gras. L'utilisation digestive des acides gras en C12 et C14 ne semble pas être influencée par l'état axénique. Comme BOYD et EDWARDS (1967) et TENNANT et coll. (1969) l'ont précédemment souligné, la flore intestinale ne semble pas non plus influencer l'utilisation digestive des acides gras insaturés. Il apparaît que l'influence se situe surtout au niveau des acides gras saturés en C16 et C18 (palmitique et stéarique). Pour les acides gras saturés très longs, l'influence semble nulle, mais les résultats, vu leur hétérogénéité, sont difficiles à interpréter.

Ceci explique bien le fait que les matières grasses insaturées, comme l'huile de maïs, qui ne contiennent qu'une faible quantité d'acides palmitique et stéarique, présentent des C.U.D. apparents très peu influencés par la flore intestinale. Il en serait de même pour les matières grasses contenant peu d'acides gras saturés en C16 et C18, mais beaucoup d'acides gras très longs ($\geq C20$) (matière grasse A par exemple).

Chez les animaux holoxéniques, les utilisations digestives apparentes des acides palmitique et stéarique augmentent fortement quand on passe de la matière grasse A à la matière grasse B. Pour l'acide palmitique le C.U.D.a. passe de 55 p.100 (A) à 68 p.100 (B), tandis que pour l'acide stéarique il passe de 50 p.100 à 57,5 p.100. Ce fait illustre bien l'influence réciproque des acides gras au niveau de l'absorption. La matière grasse A contient, rappelons-le, 15,7 p.100 d'acide oléique et 23 p.100 d'acides gras à très longues chaînes, la matière grasse B contient, pour sa part, près de 30 p.100 d'acide oléique et pas d'acides gras ayant plus de 18 atomes de carbone.

De plus, c'est avec le mélange B que l'on observe les plus fortes améliorations de l'absorption des acides palmitique et stéarique en absence de flore.

CHAPITRE IV

EFFETS CUMULES DE LA CAECECTOMIE ET DE L'ETAT AXENIQUE SUR L'ABSORPTION DES LIPIDES ALIMENTAIRES - TENEURS EN SELS BILIAIRES DE L'INTESTIN GRELE

A. INTRODUCTION

Dans les travaux qui font l'objet de ce chapitre, nous avons essayé :

- 1) de porter notre attention sur ce qui se passait au niveau des bilans d'absorption quand on élevait les teneurs en acide palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0) dans les lipides de la ration, à des taux supérieurs à ceux testés précédemment. C'est pourquoi, nous avons employé le beurre de cacao ;
- 2) d'aborder l'étude physiologique des mécanismes qui pourraient être à l'origine des différences d'absorption observées entre les deux types d'animaux, en recherchant, en particulier, si le volumineux caecum du Rat axénique était impliqué dans ce phénomène ;
- 3) d'étudier l'équipement en sels biliaires de l'intestin grêle chez les différents types d'animaux employés.

C'est pourquoi nous nous sommes proposés d'étudier l'influence de la caecectomie sur l'utilisation digestive apparente de ces acides gras en présence ou en absence de flore.

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Régime et alimentation

La composition centésimale du régime a été la même que pour les expériences précédentes (se reporter au tableau 6).

La matière grasse introduite au taux de 13,2 p.100 de la matière sèche de la ration est du beurre de cacao. La teneur exacte en acides gras dans le régime (mesurée après saponification) est de 11,4 p.100 de la matière sèche.

La composition en acides gras de la matière grasse utilisée est rapportée dans le tableau 33.

Tableau 33.- Composition en acides gras du beurre de cacao utilisé (p.100 des esters méthyliques dosés)

C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
32,5	38,1	26,5	2,9

Environ 70 p.100 des acides gras sont saturés et possèdent des chaînes longues ; il s'agit uniquement des acides palmitique et stéarique (C16:0 et C18:0). Le rapport $\frac{\text{Acide oléique (C18:1)}}{\text{acides gras longs saturés}}$ est ici de $\frac{26,5}{70,6}$ soit 0,38. Dans la matière grasse B ce rapport était de 0,55, et dans la matière grasse A il était de 0,30.

2) Animaux

Les expériences sont réalisées avec 12 Rats axéniques et 12 Rats holoxéniques de souche Fischer. Six rats de chaque type sont caeectomisés à l'âge de cinq semaines selon la technique de BRUCKNER-KARDOSS et WOSTMANN (1967).

Les Rats axéniques sont placés en cages individuelles dans des isolateurs en film plastique en suivant les techniques précédemment décrites.

Après une période d'accoutumance au régime expérimental, les rats (âgés de 91 à 118 jours) sont mis en bilan digestif pendant 8 jours. Nous avons rapporté dans le tableau 34 les poids moyens respectifs des animaux au début et à la fin de la période expérimentale. Le gain de poids des animaux se situe à un niveau bas, mais ceci s'explique par l'âge des animaux, et surtout, par la faible digestibilité de la fraction énergétique de la ration.

Tableau 34.- Caractéristiques des animaux

Type de Rat	Poids moyen initial (g)	Poids moyen terminal (g)
Rats holoxéniques non opérés	267 $\pm$ 6,2 (263)*	283 $\pm$ 9,8
Rats holoxéniques cœcectomisés	255 $\pm$ 5,7	271 $\pm$ 1,2
Rats axéniques non opérés	286 $\pm$ 10,0 (271)*	291 $\pm$ 7,1
Rats axéniques cœcectomisés	254 $\pm$ 4,0	264 $\pm$ 3,6

*Valeur moyenne estimée, coecum déduit.

Le poids moyen des caeca est de 4 g environ chez les Rats holoxéniques et de 15 g chez les Rats axéniques.

Pour ce qui concerne l'étude des sels biliaires, les Rats axéniques et holoxéniques sont des animaux de souche Fischer âgés de 90 jours et pesant en moyenne 270 g au moment de l'abattage. L'ablation du coecum a été pratiquée comme précédemment à l'âge de 5 semaines.

Tous les animaux reçoivent le même régime expérimental depuis l'âge de 21 jours jusqu'au jour de l'abattage.

Les analyses sont réalisées sur des échantillons obtenus en regroupant les extraits éthanoliques (voir chapitre deuxième : Méthodologie) des intestins grêles de 5 à 12 rats. Ces analyses sont répétées plusieurs fois.

C. RESULTATS EXPERIMENTAUX

1) Comportement alimentaire

L'ablation du caecum entraîne un certain nombre de conséquences sur le plan du comportement alimentaire des animaux étudiés. Les tableaux 35 et 36 rapportent les observations qui ont pu être enregistrées dans ce domaine.

Chez les rats non opérés, les animaux axéniques présentent une consommation alimentaire ~~plus~~ ^{moins} élevée que celle des animaux holoxéniques ; ceci peut être observé de la même façon en comparant soit les valeurs brutes

(tableau 35), soit les valeurs rapportées par jour et par 100 g de poids vif (tableau 36). En moyenne, les Rats axéniques ingèrent, par jour, 1 g de matière sèche de moins que leurs homologues holoxéniques.

Tableau 35.- Contrôle des ingesta (g)

Types de Rats	Matière sèche (g)	Matière grasse (g)
Axéniques non opérés	99,96 $\pm$ 1,93	13,40 $\pm$ 0,57
Axéniques caeectomisés	107,26 $\pm$ 3,50	14,50 $\pm$ 0,63
Holoxéniques non opérés	118,10 $\pm$ 4,85	15,58 $\pm$ 0,59
Holoxéniques caeecto- misés	127,60 $\pm$ 5,55	16,84 $\pm$ 0,44

Tableau 36.- Consommation de matière sèche
rapportée en g/100 g de poids
vif/jour

Type de Rats	Consommation
Axéniques non opérés	4,3 $\pm$ 0,1
Axéniques caeectomisés	5,1 $\pm$ 0,2
Holoxéniques non opérés	5,3 $\pm$ 0,1
Holoxéniques caeectomisés	6,0 $\pm$ 0,3

Chez les rats ayant subi l'ablation du caecum, on observe dans tous les cas une augmentation de la consommation d'aliment. La flore caecale ne paraît donc pas être le facteur essentiel de la régulation des ingesta qui se produit dans ce cas.

Enfin, il est à noter que l'ablation du volumineux caecum du Rat axénique, en augmentant la consommation alimentaire chez ces animaux, amène celle-ci à des valeurs identiques à celles qui sont observées chez le Rat holoxénique non opéré.

2) Excrétion fécale de matière sèche et utilisation digestive apparente de la ration

Les résultats sont rapportés dans le tableau 37.

Tableau 37.- Excrétion fécale de matière sèche (g) utilisation digestive apparente de la ration C.U.D.a. (p.100)

Animaux	Axéniques non opérés	Axéniques caeectomisés	Holoxéniques non opérés	Holoxéniques caeectomisés
Matière sèche excrétée (g)	20,09 $\pm$ 0,55	20,65 $\pm$ 0,80	19,22 $\pm$ 0,73	24,43 $\pm$ 1,32
C.U.D.a. de la ration (p.100)	79,9 $\pm$ 0,3	80,8 $\pm$ 0,1	84,6 $\pm$ 0,8	80,8 $\pm$ 0,5

Chez les sujets non opérés, le coefficient d'utilisation digestive apparente (C.U.D.a.) de la ration a été plus important chez les holoxéniques que chez les axéniques. Il ressort des résultats présentés que le Rat holoxénique non opéré a un C.U.D.a. en moyenne de 5,9 p.100 supérieur à celui du Rat axénique non opéré (84,6 $\pm$ 0,8 p.100 contre 79,9 $\pm$ 0,3 p.100).

La caeectomie entraîne un abaissement du C.U.D.a. de la ration chez le Rat holoxénique, où il passe de 84,6 $\pm$ 0,8 p.100 à 80,8 $\pm$ 0,5 p.100, soit une diminution absolue de 4,5 p.100. En revanche, cette intervention n'influence pas l'utilisation digestive apparente de la ration chez le Rat axénique (80,8 $\pm$ 0,1 p.100 contre 79,9 $\pm$ 0,3 p.100).

La caeectomie chez les Rats holoxéniques, en diminuant le C.U.D.a. de la ration, amène celui-ci à des valeurs tout à fait comparables à celles que nous observons chez les Rats axéniques non opérés.

3) Excrétion fécale de lipides

Dans le tableau 37, nous avons pu observer que les quantités de matière sèche fécale excrétées étaient très proches les unes des autres dans trois lots :

- axéniques non opérés ;
- axéniques caeectomisés ;
- holoxéniques non opérés ;

et supérieure dans un lot, celui des holoxéniques caeectomisés.

Pour ce qui concerne les concentrations de lipides des matières sèches fécales, elles augmentent très fortement en passant successivement des animaux axéniques aux animaux axéniques caeectomisés, puis aux animaux holoxéniques opérés ou non (tableau 38).

Tableau 38.- Concentration de lipides dans la matière sèche fécale (p.100). Quantité de lipides excrétés (g).

Animaux	Axéniques non opérés	Axéniques caeectomisés	Holoxéniques non opérés	Holoxéniques caeectomisés
Concentrations (p.100)	18,71 ± 0,47	21,51 ± 0,47	27,21 ± 0,91	27,75 ± 0,49
Quantité de lipides (g)	3,75 ± 0,07	4,44 ± 0,20	5,24 ± 0,34	6,72 ± 0,30

Alors que les ingesta de matière grasse passent de 13,14 g, chez le Rat axénique non opéré, à 16,84 g chez le Rat holoxénique caeectomisé, l'excrétion fécale s'accroît de 3,75 g à 6,72 g.

4) Composition en acides gras des lipides fécaux

Au cours de cette étude, nous avons procédé à l'extraction globale de l'ensemble des lipides fécaux. Nous présentons donc dans le tableau 39 la composition en acides gras de l'ensemble des fractions soluble et insoluble réunies.

Tableau 39.- Composition en acides gras des lipides fécaux (p.100 des esters méthyliques dosés)

Animaux	Acides gras			
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques non opérés	39,22	57,18	3,42	traces
Axéniques caeectomisés	40,20	55,85	3,90	traces
Holoxéniques non opérés	39,57	55,45	4,95	traces
Holoxéniques caeecto- misés	40,47	53,91	5,60	traces

On ne note pas de différences importantes dans les compositions en acides gras des matières grasses fécales de quatre lots. Dans tous les cas, les acides palmitique et stéarique (C16:0 et C18:0) forment au moins 95 p.100 de l'ensemble des acides gras excrétés.

5) Utilisation digestive apparente de la matière grasse

Les résultats sont rapportés sur le tableau 40. Les témoins axéniques non opérés absorbent mieux la matière grasse de la ration que les témoins holoxéniques non opérés. L'amélioration relative due à l'état axénique est en moyenne de 7,8 p.100 ($71,5 \pm 0,7$ p.100 contre $66,3 \pm 1,8$ p.100).

Chez le Rat axénique comme chez le Rat holoxénique, la caecectomie entraîne une diminution du C.U.D.a. de la matière grasse. Cependant, l'amplitude du phénomène n'est pas la même selon le type de rat. Chez les axéniques, la diminution moyenne relative est de 4,0 p.100 ($68,6 \pm 0,9$ p.100), alors que chez les holoxéniques elle atteint 9,5 p.100 ($60,0 \pm 0,7$ p.100 contre $66,3 \pm 1,8$ p.100).

Tableau 40.- Utilisation digestive apparente de la matière grasse C.U.D.a. (p.100)

Animaux	Axéniques non opérés	Axéniques caecectomisés	Holoxéniques non opérés	Holoxéniques caecectomisés
C.U.D.a.	$71,5 \pm 0,7$	$68,6 \pm 0,9$	$66,3 \pm 1,8$	$60,0 \pm 0,7$

L'ablation du caecum, en diminuant le C.U.D.a. de la matière grasse chez le Rat axénique, rapproche cette valeur de celle qui est enregistrée chez le Rat holoxénique non opéré.

6) Utilisation digestive apparente des acides gras

Les C.U.D.a. de tous les acides gras sont supérieurs chez les Rats axéniques non opérés à ce qu'ils sont chez les Rats holoxéniques non opérés (tableau 41). C'est surtout pour les acides gras saturés que l'amélioration est sensible. Ainsi, pour l'acide palmitique (C16:0), l'augmentation relative moyenne est de 8,5 p.100 ($65,8 \pm 0,9$ p.100 contre $60,6 \pm 1,8$ p.100), et pour l'acide stéarique (C18:0) elle est de 11,9 p.100 ($60,0 \pm 1,4$ p.100 contre $53,6 \pm 2,6$ p.100). Pour le cas de l'acide oléique, l'amélioration est plus faible (2,7 p.100).

Tableau 41.- Utilisation digestive apparente des acides gras (p.100)

Animaux	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Axéniques non opérés	66,5 $\pm$ 1,1	59,2 $\pm$ 1,4	96,2 $\pm$ 0,7	$\approx$ 100,0
Axéniques caeectomisés	61,9 $\pm$ 1,2	55,1 $\pm$ 1,1	94,6 $\pm$ 0,8	$\approx$ 100,0
Holoxéniques non opérés	60,6 $\pm$ 1,8	53,6 $\pm$ 2,6	93,6 $\pm$ 0,5	$\approx$ 100,0
Holoxéniques caeectomisés	51,8 $\pm$ 0,5	45,8 $\pm$ 1,4	92,0 $\pm$ 0,6	$\approx$ 100,0

L'ablation du caecum abaisse l'utilisation digestive des acides palmitique et stéarique dans tous les cas. Chez le Rat axénique, les diminutions moyennes des C.U.D.a. de ces acides gras sont respectivement de 5,0 et de 6,3 p.100, alors que chez le Rat holoxénique, elles sont de 14,5 p.100 dans les deux cas.

Si l'on compare les C.U.D.a. de chacun des acides gras, chez le Rat axénique caeectomisé et chez le Rat holoxénique non opéré, on ne note pas de différence sensible.

Enfin, en comparant les C.U.D.a. de chaque acide gras chez les Rats caeectomisés axéniques et holoxéniques, on peut observer que tous les acides gras testés ont tendance à être mieux absorbés chez les Rats axéniques.

7) Influence sur les quantités d'acides biliaires présents dans l'intestin grêle

Les résultats sont rapportés dans le tableau 42. On a également rapporté sur ce tableau les poids de caecum à 100 g de poids vif chez les deux types d'animaux.

Tableau 42.- Poids des caeca et quantité totale des acides biliaires contenus dans l'intestin grêle des rats

Type de rats	Poids du caecum/ 100g de poids vif (g)	Quantité d'acides biliaires par rat (micromoles)	Quantité d'acides biliaires par 100g de poids vif (micromoles)
Axéniques	9,10 $\pm$ 0,36	115 (100 - 122)*	43,4
Axéniques caectomisés	-	90 (82 - 100)*	32,0
Holoxéniques	1,60 $\pm$ 0,09	48 (42 - 56)*	18,7
Holoxéniques caectomisés	-	43 (42 - 49)*	17,0

* Les nombres entre parenthèses indiquent les valeurs extrêmes

La quantité totale des acides biliaires présents dans l'intestin grêle du Rat axénique est, en moyenne, 2, 4 fois plus importante que dans celui du Rat holoxénique.

Après l'ablation du caecum, on observe une légère diminution de la quantité totale de sels biliaires chez les deux types d'animaux. En se référant aux valeurs moyennes obtenues par l'animal, la diminution serait de 21,7 p.100 chez le Rat axénique et de 10,5 p.100 chez son homologue holoxénique.

8) Composition centésimale du mélange de sels biliaires présents dans l'intestin grêle

Les résultats rapportés dans le tableau 43 permettent d'établir un certain nombre de comparaisons :

- . Chez le Rat axénique, les acides biliaires trihydroxylés (cholique, α -muricholique, trihydroxylé ? et β -muricholique) représentent environ 90 p.100 des acides biliaires présents. Chez le Rat holoxénique, ces mêmes acides ne représentent qu'environ 70 p.100 du même ensemble.
- . On ne note pas la présence d'acides hyodésoxycholique et désoucholique chez les animaux axéniques. En revanche, ces mêmes acides représentent environ 18 p.100 des acides biliaires dosés dans l'intestin grêle du Rat holoxénique.

Tableau 43.- Acides biliaires présents dans l'intestin grêle des différents types de rats (p.100 de l'ensemble)

Acides	Type de rats			
	Axéniques	Axéniques caeectomisés	Holoxéniques	Holoxéniques caeectomisés
Cholique -muricholique Trihydroxy-	35,4 (35,2 - 35,6)*	35,3 (34,6 - 36,1)*	61,0 (59,8 - 62,2)*	68,0
β-muricholique	53,7 (51,7 - 55,7)*	55,7 (54,1 - 57,3)*	12,3 (11,7 - 13,0)*	19,1
Hyodésoxycholique	0,0	0,0	13,8 (12,0 - 15,6)*	3,1
7-céto.3,12-dihydroxy 5 choloni- que	0,4 (0,3 - 0,5)*	0,25	0,5	0,0
Chénodésoxycho- lique	3,2 (2,9 - 3,5)*	2,1 (2,0 - 2,3)*	2,7	1,4
Désoxycholique	0,0	0,0	4,2	
Ursodésoxycholique	2,5	2,3 (2,0 - 2,7)*	2,4	6,2
Autres dihydroxy et monohydroxy	3,3	4,3 (3,0 - 5,5)*	3,6 (3,1 - 4,3)*	1,1

*Les nombres entre parenthèses indiquent les valeurs extrêmes.

- . L'ablation du volumineux caecum, chez le Rat axénique, n'est suivie d'aucune modification de la composition en acides biliaires du mélange présent dans l'intestin grêle. Chez le Rat holoxénique, cette même intervention est suivie d'une augmentation importante de la concentration en acides biliaires trihydroxylés et d'une diminution de la concentration en acides hyodésoxycholique.

D. INTERPRETATION DES RESULTATS

Dans cette expérience, le poids moyen des sujets des différents lots est très voisin, surtout si l'on considère le poids "caecum déduit" des Rats axéniques et holoxéniques. On constate cependant des différences assez importantes dans la consommation alimentaire des rats des divers lots.

La consommation d'aliment est une donnée très complexe qui varie en fonction de très nombreux facteurs. La flore microbienne n'est que l'un de ces facteurs. Il n'est évidemment pas possible de tirer des conclusions des différences de consommation observées dans cette expérience. Il est possible, toutefois, de faire quelques remarques :

- les Rats axéniques non opérés ont la plus faible consommation d'aliment. Ceci va de pair avec une faible croissance pondérale et un métabolisme de base plus bas que chez les Rats holoxéniques non opérés ;
- la caeectomie augmente la consommation d'aliment aussi bien chez les Rats axéniques que chez les Rats holoxéniques. Chez le Rat axénique, cette augmentation de la consommation va de pair avec une augmentation du métabolisme basal et de la croissance. Chez le Rat holoxénique, le métabolisme basal n'est pas augmenté (WOSTMANN, BRUCKER-KARDOSS et KNIGHT, 1968) et la croissance reste identique.

Le rôle des stimuli, ayant pour origine les réservoirs digestifs, dans la régulation de l'appétit est peu connu. On peut se demander si l'accélération du transit n'est pas en cause dans cette variation de la consommation d'aliment. Enfin, il apparaît que les Rats axéniques caeectomisés ont une consommation alimentaire très voisine de celle des Rats holoxéniques non opérés, et, qu'à ce titre, la caeectomie rend les sujets axéniques plus semblables aux sujets holoxéniques.

L'examen des coefficients d'utilisation digestive apparente de la ration permet de mettre en évidence le fait que les Rats holoxéniques ont une meilleure absorption apparente que les trois autres groupes de rats qui diffèrent très peu entre eux. A ce titre, le caecum joue donc un rôle utile

chez le Rat holoxénique et aucun rôle chez l'axénique. Afin de quantifier le phénomène, nous avons calculé l'utilisation digestive moyenne de la fraction non lipidique de la ration dans les quatre groupes d'animaux. Le tableau 44 rapporte les résultats que nous avons obtenus et confirme le fait que, pour l'ensemble de la fraction non lipidique de la ration, l'utilisation digestive la plus élevée est enregistrée chez l'animal holoxénique. L'ablation du **caecum** ne modifie en rien ce facteur chez le Rat axénique, mais l'abaisse chez le Rat holoxénique.

Tableau 44.- Utilisation digestive moyenne de la fraction non lipidique (F.N.L.) de la ration

Animaux	Axéniques non opérés	Axéniques caecectomisés	Holoxéniques non opérés	Holoxéniques caecectomisés
F.N.L. ingéré (g)	86,78 $\pm$ 1,68	91,48 $\pm$ 2,36	110,76 $\pm$ 4,82	102,51 $\pm$ 4,21
F.N.L. excrété (g)	16,02 $\pm$ 0,63	16,15 $\pm$ 0,59	13,96 $\pm$ 0,48	17,72 $\pm$ 1,04
C.U.D.a. F.N.L. %	81,32 $\pm$ 1,33	82,15 $\pm$ 1,83	86,29 $\pm$ 2,22	83,28 $\pm$ 3,02

Ceci pourrait s'expliquer par l'importance du rôle que joue la flore bactérienne dans la digestion de la cellulose, et le fait que cet organe possède précisément une flore microbienne abondante. On sait que le Rat holoxénique peut métaboliser environ 50 p.100 de la cellulose qu'il ingère (CONRAD et coll., 1958 ; JOHNSON et coll., 1960) et que la caecectomie inhibe toute digestion de la cellulose chez cet animal (JOHNSON et coll., 1960). La flore microbienne joue aussi un rôle important dans la digestion de l'amidon (SZYLIT, 1971 ; 1974) et on peut présumer que cette digestion bactérienne de l'amidon se fait, au moins en partie, dans le caecum. Enfin, d'autres phénomènes se produisent, sans aucun doute, au niveau de cet organe : le caecum de l'axénique est le lieu d'une accumulation de substances azotées qui semble se produire parce qu'en l'absence de flore bactérienne, certaines substances protéiques d'origine endogène ne sont pas résorbées (COMBE et PION, 1966 ; LOESCHE, 1968).

La digestibilité apparente de la matière grasse ne varie pas comme la digestibilité de l'ensemble des aliments. Il est confirmé que l'utilisation digestive des matières grasses est meilleure chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique. Le C.U.D.a. du beurre de cacao qui est de 66 p.100 chez le Rat holoxénique passe à 71,5 p.100 chez le Rat axénique (68,0 contre 72,1 avec la matière grasse A, et 80,8 contre 87,7 avec la matière grasse B).

Les C.U.D.a. de tous les acides gras sont meilleurs chez les axéniques que chez les holoxéniques. Cette tendance est plus marquée avec les acides gras saturés à faible utilisation digestive qu'avec les acides gras insaturés dont la digestibilité est très grande, mais dont, cependant, l'excrétion fécale est nettement diminuée : 3,8 d'acide oléique excrété pour 100 d'ingéré chez le Rat axénique, contre 6,4 pour 100 chez le Rat holoxénique, soit une variation relative de 40 p.100.

Pour l'acide palmitique (C16:0) le C.U.D.a. passe de 60,6 à 65,8 p.100 (55,4 contre 63,0 avec la matière grasse A, et 68,3 contre 80,0 avec la matière grasse B). Pour l'acide stéarique (C18:0) le C.U.D.a. passe de 53,6 à 60,0 p.100 (50,0 contre 57,1 avec la matière grasse A, et de 57,5 à 73,2 avec la matière grasse B).

C'est donc avec la matière grasse B que nous avons obtenu les améliorations les plus importantes de l'utilisation digestive des acides gras longs et saturés. Il est important de noter que c'est également dans ce mélange que le rapport acide oléique/acides gras longs saturés était le plus élevé.

La caeectomie diminue le C.U.D.a. des matières grasses chez le Rat axénique, et on sait que cette intervention s'accompagne d'une accélération importante de la vitesse du transit intestinal. On peut penser que c'est là une explication satisfaisante de la diminution de l'absorption apparente des matières grasses chez le Rat axénique caeectomisé, encore que l'ensemble des nutriments ne subisse pas cette variation.

L'absorption des lipides alimentaires chez le Rat axénique devient, du fait de la caeectomie, voisine de ce qu'elle est chez le Rat holoxénique non opéré. Ceci tend à faire penser que les différences de digestibilité apparente observées entre axéniques et holoxéniques sont en rapport avec l'existence d'un caecum anormalement développé chez l'axénique. Mais, le fait que l'ablation du caecum, peu volumineux du Rat holoxénique, provoque chez celui-ci une diminution de l'absorption apparente des matières grasses encore plus accusée que chez le Rat axénique, interdit une conclusion aussi hâtive.

Pour ce qui concerne l'équipement en sels biliaires au niveau de l'intestin grêle, il ressort de l'étude présentée dans ce chapitre :

- que l'intestin grêle du Rat axénique a une teneur en sels biliaires au moins deux fois plus importante que celle du Rat holoxénique ;
- que la caeectomie abaisse cette teneur dans les deux cas ;
- que la même intervention ne modifie pas la composition pondérale en acides biliaires du mélange présent dans l'intestin grêle chez le Rat axénique, mais qu'elle la modifie chez le Rat holoxénique.

Le caecum et sa flore jouent donc apparemment deux rôles différents. Sur le plan physiologique le caecum en lui-même assure le maintien d'une certaine concentration en acides biliaires dans l'intestin, peut être en favorisant leur réabsorption. Sur le plan métabolique, la flore du caecum joue un rôle manifeste dans la synthèse de certains métabolites bactériens comme l'acide hyodesoxycholique.

Dans quelle mesure ces modifications sont-elles capables de faire varier l'absorption des acides gras ?

Pour ce qui concerne les sels biliaires, il est à souligner que les variations des teneurs, liées aux effets de la caecectomie, sont faibles. Si on s'en rapporte à ce qui est observé chez le Rat holoxénique, par 100 g de poids vif, la caecectomie fait passer les teneurs de 18,7 micromoles à 17 micromoles ; chez le Rat axénique elles passent de 43,4 à 32,0 micromoles. De plus, c'est chez le Rat holoxénique que sont observées les plus fortes variations de l'absorption des acides gras et les plus faibles variations quantitatives de la teneur en sels biliaires.

Il semble donc que d'autres facteurs que les seules modifications de l'équipement en sels biliaires interviennent pour expliquer le rôle du caecum dans les mécanismes d'absorption des acides gras chez le Rat. Ils pourraient sans doute être recherchés au niveau des différences du transit digestif, car les effets d'une modification importante du transit, liée à l'ablation du caecum, peuvent être pour partie compensés par une meilleure solubilisation micellaire des acides gras en présence d'une plus grande quantité de sels biliaires chez le Rat axénique.

CHAPITRE V

PROLIFERATION BACTERIENNE JEJUNALE ET ABSORPTION DES MATIERES GRASSES

A. INTRODUCTION

On sait que la création par voie chirurgicale d'un "cul-de-sac" au niveau du jéjunum provoque une augmentation importante de la teneur en matière grasses des fèces, et qu'une forte population bactérienne se développe dans cette anse. On peut ainsi recréer artificiellement un type de stéatorrhée bien particulier, connue dans la littérature anglo-saxonne comme étant le "Blind-loop syndrome". Il est intéressant de rapprocher ce fait de ce que nous avons présenté jusqu'à présent dans ce travail, surtout lorsque l'on sait que, chez le Rat axénique, la formation d'un "cul-de-sac" jéjunal n'est suivie d'aucune augmentation de l'excrétion fécale de matière grasse (SACQUET et coll., 1966).

A notre connaissance, aucun auteur n'a tenté de comparer l'utilisation digestive de matières grasses différant entre elles par leur composition en acides gras chez des animaux porteurs ou non d'un "cul-de-sac" jéjunal.

Afin de compléter nos études antérieures réalisées chez le Rat axénique et chez le Rat holoxénique, nous nous sommes donc proposés d'étudier l'influence de la création par voie chirurgicale d'un "cul-de-sac" jéjunal et de la prolifération bactérienne qui en résulte sur l'utilisation digestive d'une matière grasse saturée riche en acides palmitique et stéarique. Nous avons prolongé ce travail par l'étude de ce qui peut être observé en cas d'ingestion d'une matière grasse insaturée, mais d'utilisation digestive moyenne, proche de celle de la matière grasse saturée précédemment testée : l'huile de Colza.

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Régime et alimentation

La composition du régime utilisé au cours de ces recherches est rapportée dans le tableau 45. Ce régime contient 13 p.100 de lipides.

La composition en acides gras des deux matières grasses utilisées pour cette étude est rapportée dans le tableau 46. La matière grasse D est une graisse très saturée formée presque exclusivement de beurre de cacao (12 v/1v d'huile de coton). La matière grasse E est une huile de Colza pure riche en acide érucique (C22:1).

Tableau 45.- Composition centésimale du régime

Caséine + acides aminés complémentaires	19,0
Amidon de maïs	28,0
Sucre	28,0
Matière grasse	13,0
Agar-Agar	6,0
Sels minéraux	4,5
Vitamines	1,5

Tableau 46.- Composition en acides gras des
matières grasses utilisées
(p.100 des esters méthyliques dosés)

M.G.	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	C22:1
D	26,3	32,7	33,6	7,4	-	-	-
Colza*	3,6	2,2	12,6	15,1	7,2	8,1	50,3

*Trace de C20:0 et de C22:0 (< 1,0 p.100)

2) Animaux et protocole

Six rats holoxéniques de souche Wistar sont pourvus d'un "cul-de-sac" intestinal au niveau du jéjunum en utilisant la technique de CAMERON, WATSON et WITTS (1949). De trois semaines à un mois après l'intervention, les animaux reçoivent, durant 4 jours, un régime contenant 8 p.100 d'huile de maïs, les six rats présentent alors une stéatorrhée. Ils excrètent en moyenne 10 mg de matière grasse par gramme d'aliment ingéré, ce qui représente un C.U.D.a. moyen de 87,5 p.100 pour cette huile dont l'absorption apparente varie entre 95 et 100 p.100 chez le Rat holoxénique normal.

Les six rats opérés numérotés de 1 à 6, ainsi que six rats témoins référenciés de A à F, de même souche et de poids voisins, sont placés en cages individuelles pour une durée de 3 semaines. Pendant cette période, ils reçoivent le régime contenant la matière grasse D. L'aliment leur est distribué tous les matins et est consommé "ad libitum". Les fèces et les refus sont collectés et deshydratés quotidiennement. La consommation d'aliment est déterminée chaque jour pour chaque animal.

A la suite de cette première expérimentation, et après une période de transition de 8 jours, trois rats opérés 1, 2, 3 et trois rats témoins A, B,C, sont soumis dans les mêmes conditions que précédemment, au régime contenant la matière grasse E. L'expérience dure 15 jours.

Les poids moyens des animaux, en début de bilan, sont rapportés dans le tableau 47.

Tableau 47.- Poids des animaux au début de la période expérimentale (g)

Rats normaux	Rats opérés
348,0 $\pm$ 8,4	333,6 $\pm$ 9,6

C. INGESTION DE LA MATIERE GRASSE SATUREE D

1) Contrôle des ingesta et des excreta (tableaux 48 et 49)

L'ingestion d'aliment est nettement plus élevée chez les animaux qui n'ont pas subi l'intervention chirurgicale. L'excrétion fécale est, de plus, légèrement supérieure chez les animaux pourvus d'un cul-de-sac jéjunal. Ces deux observations se traduisent globalement par une diminution du C.U.D.a. de l'ensemble de la ration chez les animaux opérés.

Tableau 48.- Contrôle des ingesta

Animaux	Consommation globale (g)	Consommation quotidienne (g)
Normaux	461,8 $\pm$ 22,9	18,30 $\pm$ 1,06
Opérés	399,1 $\pm$ 10,2	15,96 $\pm$ 0,40

Tableau 49.- Excrétion fécale de matière sèche et utilisation digestive de la ration

Animaux	Rats normaux	Rats opérés
Matière sèche excrétée (g)	68,1 $\pm$ 1,9	71,1 $\pm$ 3,8
C.U.D. apparent de la ration p.100	85,0 $\pm$ 0,3	83,5 $\pm$ 0,4

2) Excrétion fécale de lipides

Les concentrations en lipides solubles et insolubles sont rapportées dans le tableau 50. Dans tous les cas les fèces contiennent entre 22 et 23 p.100 de lipides. La forme insoluble est la forme majeure d'excrétion pour la matière grasse D. La répartition des lipides fécaux entre les fractions solubles et insolubles est identique dans les deux groupes d'animaux.

Tableau 50.- Concentrations en lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I. dans les matières sèches fécales (p.100)

Fractions	Animaux	
	Rats normaux	Rats opérés
F.S.	5,5 $\pm$ 0,4	5,0 $\pm$ 0,4
F.I.	16,6 $\pm$ 0,7	18,3 $\pm$ 0,5
Lipides totaux	22,1 $\pm$ 0,6	23,3 $\pm$ 0,5

La composition globale en acides gras des lipides fécaux est rapportée dans le tableau 51. Les compositions sont assez similaires chez les Rats normaux et chez les Rats opérés. On observe, cependant, une teneur en acide oléique (C18:1) légèrement supérieure chez les animaux ayant été opérés.

Tableau 51.- Composition en acides gras des lipides fécaux (p.100 des esters méthyliques dosés)

Animaux	Acides gras			
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Rats normaux	36,9	51,4	11,3	traces
Rats opérés	34,0	46,3	19,5	traces

3) Utilisations digestives apparentes de la matière grasse D et de ses acides gras

Les bilans digestifs de matière grasse sont rapportés dans le tableau 52. La matière grasse D est mieux absorbée chez l'animal normal. Les différences bien que significatives (au seuil $p = 0,05$) sont cependant faibles.

Tableau 52.- Bilans digestifs des matières grasses

Animaux	Matière grasse ingérée (g)	Matière grasse excrétée (g)	C.U.D.a. (p.100)
Rats normaux	62,0 $\pm$ 3,3	14,9 $\pm$ 1,3	75,8 $\pm$ 1,1
Rats opérés	55,3 $\pm$ 1,3	15,4 $\pm$ 0,2	72,1 $\pm$ 0,8

Les valeurs enregistrées pour les utilisations digestives apparentes des acides gras, telles qu'elles apparaissent dans le tableau 53, font ressortir le fait que seul l'acide oléique voit, dans ce cas, son absorption fortement diminuée par la création d'une anse jéjunale. L'absorption apparente des acides gras saturés ne peut donc pas être fortement perturbée par cette intervention chirurgicale. Il est également à souligner que l'utilisation digestive apparente de la fraction non lipidique de la ration n'est pas influencée par cette intervention (tableau 54).

Tableau 53.- Utilisation digestive apparente moyenne des acides gras de la ration
(C.U.D.a. p.100)

Animaux	Acides gras			
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Rats normaux	67,6	62,9	92,0	100
Rats opérés	64,5	61,3	84,1	100

Tableau 54.- Utilisation digestive apparente de la fraction non lipidique de la ration
(p.100)

Rats normaux	Rats opérés
86,7 $\pm$ 0,1	85,5 $\pm$ 0,5

D. INGESTION D'HUILE DE COLZA

1) Contrôle des ingesta et des excreta (tableaux 55 et 56)

Comme dans le cas précédent, la consommation alimentaire est influencée par la présence d'un cul de sac jejunal. Les animaux ayant été opérés ont une consommation de matière sèche plus faible que les animaux témoins.

Tableau 55.- Contrôle des ingesta (g/14 jours)

Animaux	Matière sèche (g)	Matière grasse (g)
Rats normaux	375,6	48,9
Rats opérés	308,0	39,9

Tableau 56.- Excrétion fécale moyenne de matière sèche et utilisation digestive de la ration

Rats normaux	Matière fécale excrétée (g)	C.U.D. de la ration (p.100)
Rats normaux	45,2	87,9
Rats opérés	51,3	83,3

L'utilisation digestive apparente de la ration est légèrement supérieure chez les Rats témoins.

2) Excrétion fécale de lipides

Sur le tableau 57, il est important de noter que, dans tous les cas et à la différence de ce que nous avons pu observer jusqu'ici, la forme majeure d'excrétion fécale des lipides, avec l'huile de Colza, est la forme soluble. Ceci est caractéristique des matières grasses insaturées.

Le tableau 57 montre également que les teneurs en lipides totaux dans les fèces sont différentes selon que ces dernières proviennent d'animaux opérés ou non.

Tableau 57.- Concentrations en lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I.) dans les matières sèches fécales (p.100)

Fractions	Animaux	
	Rats normaux	Rats opérés
F.S.	10,2	17,0
F.I.	5,7	9,0
Lipides totaux	15,9	26,0

La création d'un cul-de-sac jéjunale provoque à la fois une augmentation de la teneur en lipides solubles et en lipides insolubles dans les fèces. La répartition des lipides fécaux entre les fractions soluble et insoluble reste la même dans les deux cas. Ainsi, la fraction soluble contient toujours environ 65 p.100 des lipides fécaux.

Le tableau 58 présente les compositions en acides gras des fractions soluble et insoluble chez les deux types d'animaux. On notera qu'avec l'huile de colza, l'acide gras présent à la plus forte concentration dans les fèces est l'acide érucique (C22:1). On observe que dans ce cas, les fractions soluble et insoluble ont des compositions en acides gras identiques tout au moins chez l'animal normal).

Tableau 58.- Composition en acides gras des fractions soluble (F.S.) et insoluble (F.I.) (p.100 des esters méthyliques dosés).

Animaux	Fractions	Acides gras						
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	C22:1
Rats normaux	F.S.	2,4	2,6	3,4	1,1	1,0	8,8	80,2
	F.I.*	2,4	3,0	3,4	1,0	1,0	9,2	74,6
Rats opérés	F.S.	5,7	10,4	10,8	1,5	1,0	8,0	60,9
	F.I.*	10,4	13,9	8,6	2,8	1,0	6,8	56,9

*Traces de C22:0 $\leq$ 1,0 p.100

Les deux fractions de lipides fécaux provenant des rats ayant été opérés présentent des compositions différentes de celles observées chez l'animal normal. On note principalement une augmentation de la teneur en acide oléique et en acides gras saturés et une diminution de la teneur en acide érucique (C22:1). On n'observe pas d'augmentation massive de la teneur en acide béhénique (C22:0) ce qui aurait pu être l'indice d'une biohydrogénation bactérienne importante.

3) Utilisation digestive de l'huile de Colza et de ses principaux acides gras

Le tableau 59 rapporte les résultats des bilans digestifs de lipides. On peut observer que l'huile de Colza subit une très forte diminution de sa digestibilité quand elle est ingérée par des rats porteurs d'un cul-de-sac jéjunal.

Tableau 59.- Bilans digestifs des lipides (valeurs moyennes)

Animaux	Matière grasse ingérée (g)	Matière grasse excrétée (g)	C.U.D.a. (p.100)
Rats normaux	48,9	7,3	84,9
Rats opérés	39,9	13,3	66,9

Comme on peut le voir sur le tableau 60 qui rapporte l'utilisation digestive apparente des principaux acides gras ingérés (présents à plus de 5 p.100 dans l'huile), cette diminution est liée à un effondrement général de l'absorption des acides gras à chaîne longue monoinsaturée.

Tableau 60.- Bilans digestifs des principaux acides gras

Acides gras	Animaux							
	Rats normaux				Rats opérés			
	Ingéré (g)	Excrété (g)	Absorbé (g)	C.U.D.a. (p.100)	Ingéré (g)	Excrété (g)	Absorbé (g)	C.U.D.a. (p.100)
C18:1	5,545	0,237	5,308	95,7	4,525	1,322	3,203	70,7
C18:2	6,645	0,047	6,598	99,3	5,422	0,266	5,156	95,0
C18:3	3,168	traces	3,168	100,0	2,585	traces	2,585	100,0
C20:1	3,565	0,624	2,941	82,5	2,909	1,002	1,907	65,5
C22:1	22,137	5,446	16,691	75,4	18,062	7,898	10,164	56,3

E. INTERPRETATION DES RESULTATS

En employant deux matières grasses de même utilisation digestive (environ 80 p.100), mais de compositions différentes en acides gras, il est possible d'observer les conséquences différentes de la création d'un cul-de-sac jéjunal chez le Rat.

Cette intervention chirurgicale est suivie d'une faible diminution de l'utilisation digestive de la matière grasse saturée D, et d'une très forte diminution de celle de l'huile de Colza.

En cas d'ingestion d'une matière grasse saturée, les acides gras saturés (C16:0 et C18:0) ne subissent pas de diminution de digestibilité apparente. Seule, celle de l'acide oléique (C18:1) est abaissée à la suite de l'intervention.

En cas d'ingestion d'huile de Colza, l'utilisation digestive de tous les acides gras insaturés et surtout monoinsaturés est fortement diminuée.

La formation d'un cul-de-sac jéjunal et la prolifération d'une importante flore, à ce niveau de l'intestin, paraît donc fortement affecter l'utilisation digestive des graisses insaturées et ne pas affecter celle des graisses saturées. Dans ce cas précis, la flore n'agit pas par biohydrogénation massive des acides gras insaturés puisque :

- a) nous trouvons plus d'acides gras insaturés dans les fèces des animaux porteurs d'un cul-de-sac jéjunal que dans celles des animaux témoins ;
- b) l'utilisation digestive des acides gras insaturés est plus faible chez les animaux opérés que chez les témoins, alors qu'une biohydrogénation bactérienne sous-estimerait les pertes fécales d'acides gras insaturés ce qui conduirait à une surestimation et non à une sous-estimation du C.U.D.a. de ces acides ;
- c) nous ne trouvons pas de différences dans l'excrétion fécale d'acide béhénique (C22:0), produit de la biohydrogénation de l'acide érucique (C22:1).

Elle n'agit pas non plus en augmentant la synthèse de savons de calcium.

L'hypothèse d'une action par l'intermédiaire des sels biliaires doit être considérée. On sait que certaines bactéries déconjuguent les sels biliaires conjugués et suffisent à provoquer une stéatorrhée quand elles sont introduites chez des Rats axéniques porteurs d'un cul-de-sac jéjunal (SACQUET et coll., 1966 ; 1968). Les acides biliaires libres sont incapables de former des micelles. Les acides gras insaturés sont beaucoup plus solubles dans les micelles que les acides gras saturés (SAVARY et CONSTANTIN, 1966).

Compte tenu de nos résultats et de ces données, on peut donc penser qu'une prolifération bactérienne dans la portion proximale du tube digestif, entraînant une déconjugaison importante des sels biliaires conjugués, modifierait fortement la solubilisation micellaire des acides gras bien solubilisés (acides gras insaturés) et serait sans influence sur celle des acides gras déjà peu ou pas solubilisés (acides gras saturés). Ceci pourrait expliquer, d'une part, que cette intervention ne modifie pas la précipitation des acides gras sous forme de savons insolubles, et, d'autre part, que seule l'absorption des acides gras insaturés est modifiée par la présence de cette forte population bactérienne.

CHAPITRE VI

SUPPLEMENTATION EN SELS BILIAIRES DE LA RATION INFLUENCE SUR L'ABSORPTION DES ACIDES GRAS CHEZ LE RAT HOLOXENIQUE

A. INTRODUCTION

Si l'absorption des acides gras longs et saturés est meilleure chez le Rat axénique que chez le Rat holoxénique, cette observation va de pair avec le fait qu'en absence de flore la quantité de sels biliaires présente dans l'intestin grêle du Rat axénique est de 2 à 3 fois supérieure à ce qui est rapporté chez les animaux porteurs d'une flore.

Compte tenu du rôle que jouent les sels biliaires conjugués dans les phénomènes de solubilisation micellaire des acides gras au niveau intestinal, nous nous sommes proposé de rechercher si les modifications rapportées pour l'absorption des lipides n'étaient pas liées aux différences quantitatives et qualitatives de l'équipement en sels biliaires des deux types d'animaux.

Dans cette étude notre but a été double :

- augmenter artificiellement la teneur en sels biliaires dans le tractus digestif du Rat holoxénique par supplémentation alimentaire, et étudier les modifications de la teneur et de la composition en sels biliaires au niveau de l'intestin grêle ;
- mesurer l'influence de cette supplémentation sur l'utilisation digestive des acides gras et la synthèse des savons insolubles.

B. ALIMENTATION - REGIME ET ANIMAUX

1) Alimentation et régime

Les animaux sont nourris "ad libitum" et reçoivent le régime dont la composition a été rapportée dans le tableau 6. La matière grasse utilisée au cours de ces expériences est la matière grasse B (voir tableaux 20 et 21).

Pour les animaux soumis à une supplémentation en sels biliaires, on introduit, dans le régime, une préparation commerciale de Taurocholate de sodium* au taux de 5 p.1000 par rapport à la matière sèche. L'analyse

./.

*Taurocholate de sodium. Steraloids Inc. Pawling, N.Y., Batch 7076.

de cette préparation (tableau 61) fait apparaître la présence d'autres acides biliaires à côté de l'acide cholique.

Tableau 61.- Composition molaire du mélange de sels biliaires

Sels biliaires	p.100
Cholate (3α , 7α , 12α -trihydroxy 5 β cholanate	78,1
Chenodesoxycholate (3α , 7α -dihydroxy 5 β cholanate)	1,8
7-céto- 3α , 12α -dihydroxy 5 β cholanate	1,1
Desoxycholate (3α , 12α -dihydroxy 5 β cholanate)	17,5
Lithocholate (3α -hydroxy 5 β cholanate)	1,4

2) Animaux et protocoles

L'étude est effectuée à l'aide de deux expérimentations différentes, les exigences de l'une ne paraissant pas compatibles avec celles de l'autre.

- Dans l'expérience (1) on se propose de déterminer dans quelle mesure la supplémentation en sels biliaires de la ration modifie l'équipement en sels biliaires au niveau de l'intestin grêle.

Trois rats de souche Fischer reçoivent pendant 15 jours le régime supplémentation en sels biliaires. Au matin du quinzième jour, en dehors de toute période de digestion, les animaux sont sacrifiés et les intestins grêles sont prélevés. De la même façon on procède au prélèvement des intestins grêles de 6 autres rats ayant reçu, pendant la même période que précédemment, le même régime, mais non supplémentation.

Au moment du sacrifice, les rats ayant été supplémentation en sels biliaires pèsent, en moyenne, 280 g et sont âgés d'environ 95 jours. Les autres rats pèsent, en moyenne, 266 g et sont âgés de 90 jours.

- Dans l'expérience (2), on se propose de déterminer quelles modifications de l'utilisation digestive des matières grasses entraîne la supplémentation en sels biliaires de la ration.

Six rats de souche Fischer, âgés de 58 jours et pesant, en moyenne, 225 g en début d'expérience, sont répartis en deux lots homogènes A(+) et B, et sont disposés en cages individuelles. Tous ces animaux reçoivent pendant 14 jours le même régime de base, mais dans le cas des animaux du lot A(+), celui-ci est supplémentation en sels biliaires au taux de 5 p.1000.

Cette expérience (2) se déroule dans des conditions semblables à celles de l'expérience (1). Les rats sont issus, dans les deux cas, de la même salle d'élevage et toutes les expériences se déroulent dans cette salle.

C. RESULTATS

1) Variations de l'équipement en sels biliaires (expérience 1)

La consommation d'aliment est semblable chez les rats qui reçoivent des sels biliaires et chez ceux qui n'en reçoivent pas (186 g et 185,3 g). Les animaux supplémentés ingèrent, en moyenne, 123 micromoles de sels biliaires par jour et par rat, soit 1720 micromoles pendant les 14 jours d'expérience.

Sous l'influence de cet apport, la quantité totale de sels biliaires par intestin grêle de Rat, qui est de 48 micromoles chez les Rats holo-xéniques recevant un régime normal, s'élève à 88 micromoles.

Le graphique 6 représente les quantités des différents sels biliaires exprimées en micromoles par intestin grêle de rat. L'acide cholique et l'acide desoxycholique, qui représentent respectivement 78 p.100 et 18 p.100 environ de l'apport alimentaire des acides biliaires, augmentent d'une manière très importante et constituent respectivement 64 p.100 et 22 p.100 de la quantité totale des acides biliaires mesurée au niveau de l'intestin grêle. Parmi les autres espèces chimiques d'acides biliaires, il convient de remarquer que l'acide β -muricholique diminue peu (témoin 5,9 micromoles, supplémentés : 5,1 micromoles, soit une diminution de 1/7ème de la valeur du témoin), alors qu'au contraire l'acide hyodésoxycholique diminue d'une manière très considérable (témoins : 6,6 micromoles, supplémentés : 2,3 micromoles, soit une diminution des 2/3 de la valeur des témoins).

2) Bilans digestifs (expérience (2))

a) Contrôle des ingesta et des excréta

La consommation d'aliment comme dans l'expérience (1) n'est pas influencée par la supplémentation en sels biliaires de la ration (tableau 62).

Tableau 62.- Contrôle des ingesta

Lots	Matière sèche ingérée	Consommation quotidienne	Matière grasse ingérée
A ⁺	196,0 (191,4 - 199,5)*	14,0	25,5 (24,9 - 25,9)*
B	191,0 (186,7 - 194,8)*	13,6	24,8 (24,3 - 25,3)*

* Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes
./.



* Cette fraction contient des traces d'acide α -muricholique et d'un acide trihydroxylé inconnu.

Graphique 6 - Teneurs en sels biliaires de l'intestin grêle des animaux supplémentés ou non supplémentés.

Le tableau 63 rapporte l'excrétion fécale de matière sèche et le C.U.D.a. de la ration dans les deux cas. On notera que la supplémentation en sels biliaires n'améliore que très faiblement l'utilisation digestive de la ration.

Tableau 63.- Excrétion fécale de matière sèche et utilisation digestive de la ration

Lots	Excrétion fécale (g)	C.U.D.a. de la ration (p.100)
A ⁺	24,6 (23,6 - 25,5)*	87,5 (86,8 - 87,7)*
B	26,9 (25,9 - 28,3)*	85,9 (85,2 - 86,7)*

*Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes.

b) Excrétion fécale de lipides et de calcium

Les résultats sont rapportés dans les tableaux 64 et 65. Si les matières sèches fécales contiennent 7,5 p.100 de lipides dans le lot (A⁺), elles en contiennent plus de 15 p.100 dans le lot B. De plus, les lipides fécaux se répartissent différemment entre les fractions solubles (S) et insolubles (SI), selon que la ration a été ou non supplémentée en sels biliaires. Dans le lot A, environ 60 p.100 des matières grasses excrétées se trouvent dans la fraction soluble, alors que dans le lot B, les proportions sont inversées.

Tableau 64.- Concentration en lipides solubles (F.S.) et insolubles (F.I.) dans les matières sèches fécales (p.100).

Lots	F.S.	F.I.
A ⁺	4,6 (3,9 - 5,1)*	2,9 (2,5 - 3,3)*
B	6,1 (5,6 - 6,6)*	9,6 (8,4 - 10,8)*

*Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes.

Tableau 65.- Excrétion de calcium dans les matières fécales

Lots	Concentration en Ca^{++} (p.100)	Excrétion de Ca^{++} (mg)	mg Ca^{++} excrété/g d'aliment ingéré
A ⁺	9,12 (8,7 - 9,4)*	2239,5 (2190,1 - 2307,5)*	11,407 (11,106 - 11,566)*
B	8,11 (8,0 - 8,2)*	2182,8 (2133,3 - 2281,0)*	11,428 (10,955 - 11,904)*

*Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes.

L'augmentation de l'excrétion fécale de lipides, sous forme insoluble ne peut être associée à une diminution de l'utilisation digestive du calcium ou à un accroissement de son excrétion endogène. En effet, les quantités de calcium excrétées, rapportées à 1 gramme d'aliment ingéré, sont identiques dans les deux lots. La synthèse de savons de calcium, constituants essentiels des fractions insolubles des lipides fécaux, n'a donc pu en aucun cas être limitée par la disponibilité en ions Ca^{++} dans le milieu.

Dans le tableau 66 on notera que les compositions moyennes en acides gras des fractions solubles et insolubles des matières grasses fécales sont très comparables dans le lot ayant reçu une supplémentation en sels biliaires (lot A⁺). Il n'en est pas de même dans le lot B. Dans ce cas, la teneur relative en acides gras saturés et longs (C16 et C18) est plus importante dans la fraction insoluble que dans la fraction soluble. Cette observation va de pair avec une plus faible concentration en acide oléique (C18:1) dans la fraction insoluble.

Tableau 66.- Composition moyenne en acides gras des fractions solubles (F.S.) et insolubles (F.I.)

Lots	Fractions	Acides gras						
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	?
A ⁺	F.S.	1,8	4,1	40,2	39,3	11,4	3,2	-
	F.I.	2,5	4,3	39,9	43,3	8,3	1,3	1,3
B	F.S.	5,0	6,3	37,9	32,3	15,5	3,0	-
	F.I.	2,0	4,3	42,8	45,0	4,3	1,0	1,0

c) Utilisation digestive de la matière grasse et de ses acides gras (tableaux 67 et 68)

Tableau 67.- Bilan digestif des lipides

Lots	Matière grasse ingérée (g)	Matière grasse excrétée (g)	C.U.D.a. (p.100)
A ⁺	25,4 (24,9 - 25,9)*	1,8 (1,6 - 2,1)*	92,7 (91,4 - 93,9)*
B	24,8 (24,3 - 25,3)*	4,2 (3,7 - 4,8)*	83,0 (80,7 - 84,7)*

* Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes

Tableau 68.- Utilisation digestive des acides gras de la ration C.U.D.a.(p.100)

Lots	Acides gras					
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
A ⁺	99,1	95,9	89,8	89,5	97,7	97,6
B	96,6	86,3	70,3	64,9	95,5	96,2

L'absorption apparente de la matière grasse B est significativement améliorée en cas d'ingestion prolongée d'un régime supplémenté en sels biliaires.

L'augmentation relative de l'utilisation digestive est de plus de 10 p.100.

La supplémentation de la ration par la préparation commerciale de Taurocholate de sodium entraîne une amélioration notable de l'absorption des acides gras saturés, déjà détectable au niveau de l'acide myristique (C14).

D. INTERPRETATION DES RESULTATS

Dans nos expériences, le prélèvement des intestins grêles, pour doser les sels biliaires, est effectué en dehors des périodes de réplétion digestive. Les valeurs ainsi mesurées constituent des minima qui correspondent aux quantités maintenues par le cycle entérohépatique au moment du sacrifice de l'animal auxquelles il convient d'ajouter, pendant les périodes de réplétion, les quantités correspondant à l'aliment en cours de digestion.

Sous l'influence de l'apport alimentaire de sels biliaires, la quantité totale de sels biliaires contenus dans l'intestin grêle de ces Rats holoxéniques, s'élève et se rapproche de celle précédemment observée chez les Rats axéniques : 88 micromoles chez ces Rats holoxéniques, 100 à 110 micromoles chez les Rats axéniques.

Les quantités de sels biliaires excrétées au niveau des fèces n'ont pas été dosées. Cependant, chez les Rats holoxéniques qui reçoivent des sels biliaires dans leur aliment, les quantités présentes au niveau de l'intestin grêle (88 micromoles) demeurent très faibles en comparaison de la quantité totale de sels biliaires ingérée pendant la durée de l'expérience (1720 micromoles/rat). L'excrétion totale de sels biliaires pendant cette période est donc voisine de l'ingestion.

Comme on peut le voir sur le tableau 69 l'apport alimentaire de sels biliaires ne modifie, en aucune façon, la digestibilité apparente de la fraction non lipidique de la ration.

Tableau 69.- Utilisation digestive de la fraction non lipidique de la ration (p.100)

Lots	C.U.D.a. (p.100)
A ⁺	86,7 (85,9 - 87,3)*
B	86,3 (85,9 - 87,9)*

*Les chiffres entre parenthèses correspondent aux valeurs extrêmes

En revanche, la supplémentation en sels biliaires améliore fortement l'utilisation digestive de la matière grasse ingérée. C'est au niveau des acides gras saturés (palmitique et stéarique, C16:0 et C18:0) que l'on observe les augmentations d'absorption les plus significatives. De plus,

cette supplémentation provoque une diminution importante de l'excrétion de savons insolubles, alors que l'excrétion de Ca^{++} n'est pas modifiée.

Il semble donc que les différences rapportées précédemment entre Rats axéniques et Rats holoxéniques, pour ce qui concerne l'absorption intestinale des lipides, peuvent être recréées en présence de flore gastrointestinale, à partir du moment où il est possible d'augmenter artificiellement la teneur en sels biliaires au niveau de l'intestin grêle. Dans tous les cas, l'amélioration de l'utilisation digestive des matières grasses est toujours liée à une augmentation de l'absorption des acides gras saturés et à une diminution de l'excrétion de savons de calcium. On peut donc penser que l'augmentation de l'absorption des matières grasses enregistrées en absence de flore est en grande partie due au fait que, chez le Rat, l'état axénique multiplie par 2 ou 3 la teneur en sels biliaires dans l'intestin.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

A. RESUME DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

L'ensemble des expérimentations dont les résultats sont rapportés dans ce travail démontre que la flore du tractus digestif intervient d'une façon non négligeable dans les processus de digestion et d'absorption des lipides alimentaires chez l'animal monogastrique. On peut résumer nos observations de la façon suivante :

- La flore du tractus digestif ne modifie que très faiblement la quantité globale des lipides fécaux d'origine endogène excrétés quotidiennement. En revanche, elle en modifie totalement la composition en acides gras. Elle permet la biohydrogénation d'une partie des acides gras insaturés endogènes et est responsable de l'apparition d'acides gras ramifiés et d'acides gras à nombre impair d'atomes de carbone.
- La présence d'une flore dans le tractus digestif du Rat est un facteur qui accélère le transit des lipides alimentaires. C'est également un facteur qui intervient dans la régulation du volume caecal.
- En absence de flore, l'absorption apparente des matières grasses saturées est meilleure qu'en présence d'une flore. La flore du tractus digestif ne modifie pas de la même façon l'absorption de tous les acides gras. Seuls les acides gras saturés en C16 et C18 voient leur absorption nettement améliorée par l'état axénique.
- Chez le Rat axénique, l'excrétion fécale de savons de calcium est inférieure à ce qu'elle est chez l'animal holoxénique.
- L'ablation du volumineux caecum et l'accélération de la vitesse du transit qui en découle, ne modifient que très légèrement l'absorption des lipides chez l'animal sans flore. L'hypertrophie caecale du Rat axénique ne peut donc être considérée comme étant le facteur responsable de l'augmentation de l'absorption des acides palmitique et stéarique que l'on observe chez cet animal.
- Quand on provoque artificiellement une prolifération de la flore bactérienne, on observe une forte diminution de l'absorption des lipides insaturés, une très faible variation de l'absorption des lipides saturés et aucune modification de l'excrétion fécale des savons insolubles.

- Le tractus digestif du Rat axénique contient 2 à 3 fois plus de sels biliaires conjugués que celui du Rat holoxénique. Quand on assure un apport alimentaire important de sels biliaires (Taurocholate de sodium), on augmente fortement (+10 p.100) l'absorption des lipides saturés et on abaisse parallèlement l'excrétion de savons de calcium sans modifier celle de l'ion Ca^{++} .

B. DISCUSSION ET INTERPRETATION GENERALE DES RESULTATS

L'expérience permettant de recréer artificiellement, chez le Rat "Holoxénique", les conditions optimales d'absorption des lipides observés chez le Rat "axénique" nous paraît fondamentale pour l'interprétation de l'ensemble des observations rapportées.

Cette expérimentation met en évidence le rôle des différences de teneurs en sels biliaires du tractus digestif des deux types d'animaux étudiés dans les mécanismes d'absorption des lipides saturés.

Que ce soit chez l'animal axénique ou chez l'animal holoxénique supplémenté, on observe par rapport à l'animal holoxénique normal, trois différences fondamentales :

- une augmentation de l'absorption des lipides saturés ;
- une augmentation de l'absorption des acides gras saturés ;
- une diminution de l'excrétion des savons de Ca^{++} .

Comment une augmentation de la teneur en sels biliaires conjugués dans l'intestin grêle peut-elle influencer ces facteurs ?

D'après l'ensemble de nos résultats, c'est au niveau de la solubilisation micellaire des produits de l'hydrolyse intraluminaire des lipides alimentaires qu'il convient de rechercher une interprétation cohérente des phénomènes.

On sait qu'à partir d'une certaine concentration dans le milieu, les sels biliaires conjugués forment des associations micellaires. Cette concentration, variable selon les sels biliaires, définit ce que l'on appelle la concentration micellaire critique. Au-delà de leur concentration micellaire critique, les acides biliaires, quand ils sont présents sous forme conjuguée avec la taurine ou la glycine, peuvent "solubiliser" d'une façon stable des molécules insolubles dans l'eau comme les 2-mono-glycérides et les acides gras libres.

A même concentration en sels biliaires conjugués dans le milieu, la solubilisation micellaire des acides gras longs saturés est beaucoup plus faible que celle des acides longs insaturés. Ainsi, l'acide palmitique (C16:0) est deux fois plus "soluble" que l'acide stéarique (C18:0), mais huit à dix fois moins que l'acide oléique (CONSTANTIN et SAVARY, 1965 ; SAVARY et CONSTANTIN, 1966).

In vitro, et dans des conditions définies très voisines de celles qui existent dans l'intestin grêle ($T^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$, $[\text{Na}^{+}] = 0,15 \text{ M}$, $\text{pH} = 6,3$), une augmentation de la concentration en sels biliaires conjugués dans le milieu provoque une augmentation proportionnelle de la solubilisation micellaire de l'acide palmitique et de la 2-monooléine. Cependant, la "solubilisation" de la 2-monooléine commence à des concentrations en sels biliaires plus faibles que dans le cas de l'acide palmitique, et les quantités de monooléine solubilisées sont plus grandes. De plus, la concentration micellaire critique du système sels biliaires-2-monooléine est plus basse que celle des sels biliaires seuls, et, dans un système sels biliaires-2-monooléine-acide palmitique, quand on augmente la concentration en 2-monooléine, on augmente aussi la quantité d'acide palmitique solubilisée (HOFFMANN, 1961).

Tout récemment, HOFFMAN (1970), HOFFMAN, SIMMONDS et MORGAN (1971), puis DAWSON et WEBB (1973) ont montré l'importance de la concentration en sels biliaires et de la présence d'une phase micellaire dans les mécanismes d'absorption de l'acide oléique.

Dans toutes nos expériences, nous avons employé des matières grasses très riches en acides saturés (environ 45 p.100 des acides gras dosés). On peut donc concevoir que la solubilisation micellaire des acides palmitique et stéarique a été meilleure chez les Rats axéniques ou holoxéniques supplémentés en sels biliaires conjugués que chez les Rats conventionnels. De plus, quand le rapport (acides gras longs saturés)/(acide oléique) dans la ration diminue, les améliorations de l'absorption des acides gras saturés liées à l'état axénique sont plus faibles. Ceci semblerait démontrer une influence concomittante de la teneur en sels biliaires conjugués et de la concentration en acide oléique dans la ration sur l'amélioration de l'absorption des acides palmitique et stéarique. Il nous paraît donc difficile d'expliquer ces observations autrement que par une amélioration de la solubilisation micellaire des acides gras longs et saturés.

Quand on ajoute des ions Ca^{++} à une solution micellaire d'acides gras longs saturés dans des sels biliaires conjugués, les acides gras quittent la phase micellaire pour précipiter sous forme de savons insolubles. Quand ces mêmes acides gras sont solubilisés dans des micelles mixtes

contenant de la monooléine, le précipité ne se forme plus. Les micelles mixtes, qui sont normalement présents au niveau du jéjunum seraient donc une forme de protection efficace contre la précipitation des acides gras saturés par les ions Ca^{++} du milieu (HOFMANN, 1963a).

Une augmentation de la teneur en sels biliaires dans l'intestin grêle doit conduire à une augmentation du rapport lipides sous forme micellaire/lipides sous forme émulsionnée. Cet effet, d'après BORGSTRÖM (1967), résulte d'une augmentation du volume micellaire et non d'une augmentation de la concentration en lipides dans la phase micellaire. Une plus grande capacité de solubilisation micellaire peut entraîner une augmentation de la vitesse de transfert des acides gras saturés de la phase "émulsion" où a lieu la lipolyse à la phase "micelle mixte" avec les sels biliaires conjugués et la 2-monooléine. De ce fait, ces acides gras saturés seraient plus rapidement et plus efficacement protégés de la précipitation par les ions Ca^{++} . Ceci expliquerait pourquoi le Rat axénique et le Rat holoxénique, supplémentés en sels biliaires, excrètent moins de savons de calcium que le Rat holoxénique. C'est donc l'ensemble de ces phénomènes qui contribuerait à différencier l'absorption des acides gras saturés chez le Rat axénique et le Rat holoxénique.

Pour ce qui concerne les phénomènes observés en cas de prolifération bactérienne dans le tractus digestif et en les reliant à ce que nous avons vu précédemment, on peut émettre l'hypothèse suivante :

- . Chez l'animal holoxénique normal qui reçoit un fort apport d'acides gras saturés, la solubilisation micellaire de ces acides est mauvaise, ce qui favorise la formation de savons insolubles et défavorise leur absorption. En revanche, on peut penser que la solubilisation micellaire des acides gras insaturés est satisfaisante même aux concentrations en sels biliaire conjugués rencontrées dans l'intestin grêle du Rat holoxénique.
- . Si on abaisse la concentration en sels biliaires conjugués à des valeurs plus faibles que celles rencontrées chez l'animal holoxénique, on ne modifie pas ou très peu la solubilisation micellaire des acides gras saturés qui est déjà très mauvaise chez le témoin. Par voie de conséquence, on ne modifiera pas non plus la formation des savons insolubles et l'absorption de ces acides. En revanche, dans de telles conditions, on risque de diminuer la solubilisation micellaire des acides gras longs insaturés et, par voie de conséquence, d'abaisser fortement leur absorption (DAWSON et WEBB, 1973).

- . La formation d'une anse borgne jéjunale chez le Rat holoxénique entraîne la déconjugaison d'une quantité importante de sels biliaires en relation avec l'augmentation de la population bactérienne dans l'ensemble du tractus digestif (SACQUET et coll., 1968). Les sels biliaires déconjugués perdent leurs propriétés de synthétiser des micelles (HOFMANN, 1961). Cette intervention chirurgicale correspond donc globalement à abaisser la concentration en sels biliaires conjugués dans le tube digestif de l'animal holoxénique.

L'ensemble de ces données permettrait d'expliquer pourquoi chez les animaux holoxéniques porteurs d'une anse borgne jéjunale, on observe une forte augmentation de l'excrétion fécale quand l'animal ingère des lipides insaturés et de très faibles modifications quand il ingère des lipides saturés. Dans le premier cas, la solubilisation micellaire des acides gras insaturés risque d'être abaissée, tandis que dans le second cas celle des acides gras saturés, déjà très mauvaise, ne pourra être que très faiblement modifiée.

TABLE DES MATIERES

	Pages
A. INTRODUCTION	1
B. MATERIEL ET METHODES	20
C. RESULTATS	
Chapitre I - Etude des lipides fécaux d'origine endogène en présence et en absence de flore gastro-intesti- nale. Influence de la flore sur le transit des acides gras	29
Chapitre II - Influence de la flore gastro-intestinale sur l'utilisation digestive apparente d'une matiè- re grasse contenant des acides gras allant de l'acide laurique (C12:0) à l'acide érucique (C22:1 ω 9)	36
Chapitre III - Influence de la flore gastro-intestinale sur l'utilisation digestive apparente d'une matiè- re grasse contenant des acides gras allant de l'acide laurique (C12:0) à l'acide linoléique (C18:2 ω 6)	45
Chapitre IV - Effets cumulés de la caecectomie et de l'état axénique sur l'absorption des lipides alimen- taires. Teneurs en sels biliaires de l'intes- tin grêle	54
Chapitre V - Prolifération bactérienne jéjunale et absorp- tion des matières grasses	67
Chapitre VI - Supplémentation en sels biliaires de la ration Influence sur l'absorption des acides gras chez le Rat holoxénique	77
D. CONCLUSION GENERALE	85

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABRAMS G.D., BISCHOP J.E., 1967. Effect of the normal microflora on gastrointestinal motility. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 126, 301-304.
- AFIFI M., 1959. Über den Einfluss antibiotischer Wirkstoffe in verschiedenen Dosierungen auf Kükenwachstum und Futterverdaulichkeit. *Arc. Kleintierzucht*, 23, 404-408.
- ARIES V., HILL M.J., 1970a. Degradation of steroids by intestinal bacteria. I.- Deconjugation of bile salts. *Bioch. Biophys. Acta*, 202, 526-534.
- ARIES V., HILL M.J., 1970b. Degradation of steroids by intestinal bacteria II.- Enzymes catalysing the oxido-reduction of the 3 α , 7 α , and 12 α -hydroxyl groups in cholic acid, and the dehydroxylation of 7-hydroxyl group. *Bioch. Biophys. Acta*, 202, 535-543.
- ARIES V., HILL M.J., 1970c. The formation of unsaturated bile acids by intestinal bacteria. *Bioch. J.*, 119, 37P.
- ASHWORTH C.T., LAWRENCE J.F., 1966. Electron microscopic study of the role of lipid micelles in intestinal fat absorption. *J. Lipid Res.*, 7, 465.
- BANKS A., HILDITCH T.P., 1931. The glyceride structure of beef tallow. *Biochem. J.*, 25, 1168-1182.
- BORGSTRÖM B., 1967. Partition of lipids between emulsified oil and micellar phases of glyceride bile salt dispersions. *J. Lipid Res.*, 8, 598-608.
- BOYD F.M., EDWARDS H.M., 1967. Fat absorption by germ-free chicks. *Poult. Sci.*, 46, 1481-1483.
- BRUCKNER-KARDOSS E., WOSTMANN B.S., 1967. Caecectomy of germ-free Rats. *Lab. Anim. Care*, 17, 542-546.
- CAMERON R.G., WATSON G.M., WITTS L.I., 1949. The experimental production of macrocytic anemia by operations of the intestinal tract. *Blood*, 4, 803-851.
- CHALUPA W., KUTCHES A.J., 1968. Biohydrogenation of linoleic 1-C¹⁴ linoleic acid by rumen protozoa. *J. Anim. Sci.*, 27, 1502-1508.
- CLARK B., HÜBSHER G., 1960. Biosynthesis of glycerides in the mucosa of the small intestine. *Nature, London*, 185, 35-37.
- CLARK B., HÜBSHER G., 1961. Biosynthesis of glycerides in subcellular fractions of intestinal mucosa. *Biochim. Biophys. Acta*, 46, 479-494.
- COLE Jr. J.R., BOYD F.M., 1967. Fat absorption from the small intestine of gnotobiotic chicks. *Appl. Microbiol.*, 15, 1229-1234.
- COMBE E., PION R., 1966. Note sur la composition en acides aminés du contenu de caecum de rats axéniques et de rats témoins. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 6, 255-259.

CONRAD H.E., WATTS W.R., IANOCO J.M., KRAYBILL H.F., FRIEDEMANN T.E., 1958. Digestibility of uniformly labelled ^{14}C soybean cellulose in the Rat. *Science*, 127, 1293.

CONSTANTIN M.J., SAVARY P., 1965. Sur l'incorporation des chaînes stéariques dans les chylomicrons lymphatiques du Rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 106, 248-260.

COULTER A.W., TABALAY P., 1968. Studies on the microbiological degradation of steroid ring. *A.J. Biol. Chem.*, 243, 3238-3247.

CRUICKSHANK K., 1934. Cité par FRANCOIS A.C. et FLANZY J., (1959) voir cette référence.

DAWSON R.M.C., 1959. Hydrolysis of lecithin and lysolecithin by rumen microorganisms of the sheep. *Nature*, 183, 1822-1823.

DAWSON R.M.C., 1970. How ruminants digest fats. Agricultural research Council. Institute of animal Physiology, Report for 1968-1969, p. 22-29.

DAWSON A., ISSELBACHER K., 1960. The esterification of palmitate $1\text{-}^{14}\text{C}$ by homogenates of intestinal mucosa. *J. Clin. Invest.*, 39, 150-160.

DAWSON R.M.C., KEMP P.P., 1969. The effect of defaunation on the phospholipids and on the hydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen. *Biochem. J.*, 115, 351-352.

DAWSON A.M., WEBB J.P.W., 1973. Oleic acid absorption from micellar solutions and emulsions in the Rat. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 142, 906-908.

DESNUELLE P., 1961. Pancreatic lipase. *Advan. Enzymol.*, 23, 129-161.

DONALDSON R.M. Jr., 1965. Studies on the pathogenesis of steatorrhea in the blind loop syndrome. *J. clin. Inv.*, 44, 1815-1825.

DUCLUZEAU R., BELLIER M., RAIBAUD P., 1970. Transit digestif de divers Inoculum bactériens introduits "Per os" chez des Souris axéniques et holoxéniques (conventionnelles). Effet antagoniste de la microflore du Tractus intestinal. *Zbl. Bakt. I. Abt. orig.*, 213, 533-548.

EKDAHL H., SJÖVALL J., 1955. Metabolism of deoxycholic acid in the rabbit. *Acta Phys. Scand.*, 38, 287-294.

ENTRESSANGLES B., PASERO L., SAVARY S., SARDA L., DESNUELLE P., 1961. Influence de la nature des chaînes sur la vitesse de leur hydrolyse par la lipase pancréatique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 43, 581-591.

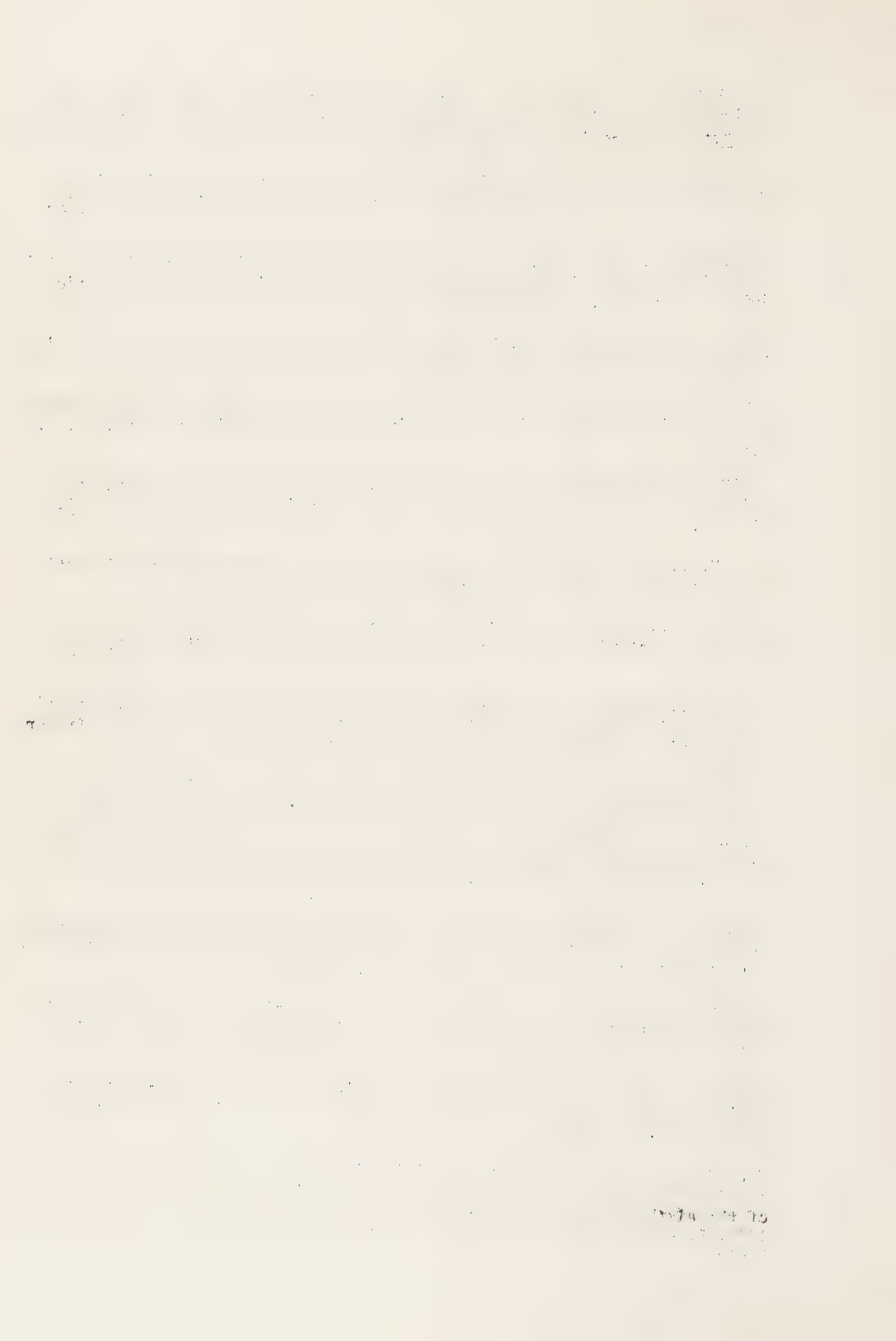
EVARD E., HOET P.P., EYSEN H., CHARLIER H., SACQUET E., 1964. Fecal lipids in germ-free and conventional Rats. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 45, 409-414.

EVARD E., SACQUET E., RAIBAUD P., CHARLIER H., DICKINSON A., EYSEN H., HUET P.P., 1965. Studies on conventional and gnotobiotic Rats. Effect of intestinal bacteria on fecal lipids and fecal sterols. *Ernährung*, 10, 257-263.

EYSEN H., 1966. Metabolism of lipids and sterols in germ-free and conventional rats and chicks. C.R. 9ème Congrès International de Microbiologie, Moscou, 1966, 329-340.

- EYSEN H., DE PAUW G., DE SOMER P., 1973. Biohydrogenation of long-chain Fatty acids by intestinal microorganisms. In "Germ-free Research" Biological Effect of Gnotobiotic Environments. J.B. HENEGHAN Ed. Academic Press New-York, London, 277-284.
- FAKAMBI L., FLANZY J., FRANCOIS A.C., 1969. Compétition "in vivo" entre acides gras et phosphore pour la formation de composés insolubles. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D, 269, 2233-2235.
- FLANZY J., RERAT A., FRANCOIS A.C., 1968. Etude de l'utilisation digestive des acides gras chez le Porc. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 8, 537-548.
- FOLCH J., LEES M., SLOANE-STANLEY G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226, 497-509.
- FRANCOIS A.C., FLANZY J., 1959. Données nouvelles sur l'influence de l'alimentation sur les graisses de réserve : aspect qualitatif. Ann. Nutr. Alim., 13, A111-A161.
- GARTON G.A., 1954. The component fatty acids of bovine mammary gland fat. J. Sci. Fd. Agric., 5, 251-256.
- GARTON G.A., 1960. Fatty acid composition of the lipids of pasture grasses. Nature, 187, 511-512.
- GARTON G.A., LOUGH A.K., 1958. Lipolysis in the rumen. Nature, 182, 1511-1512.
- GARTON G.A., LOUGH A.K., 1963. Cité par GARTON in "Progress in Nutrition and allied Sciences". Ed. D.P. CUTHBERSON, Oliver and Boyd, London, p. 69-82.
- GARTON G.A., LOUGH A.K., VIOQUE E., 1959. The effect of sheep rumen contents on triglycerides in vitro. Biochem. J., 73, 46P.
- GARTON G.A., LOUGH A.K., VIOQUE E., 1961. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. J. Gen. Microbiol., 25, 215-225.
- GARTON G.A., MOREHOUSE M.G., LOUGH A.K., 1961. Abstr. Comms. 5th Int. Cong. Biochem., 279.
- GOMPERTZ S.M., SAMMONS H.G., 1963. The origin of fecal lipids. The composition of fecal fats in human subjects. Clin. Chem. Acta, 8, 591.
- GREEN T.J., HILDITCH T.P., 1936. J. Soc. Chem. Ind., 55, 4T.
- GRUNDY S.M., AIRENS E.H., MIETTINEN T.A., 1965. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. J. Lipid Res., 6, 397-410.
- GUSTAFSSON B.E., BERGSTROM S., LINDSTEDT S., NORMAN A., 1957. Turnover and nature of fecal bile acids in germ-free and infected Rats fed cholic acid $24\text{-}^{14}\text{C}$. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 94, 467-471.
- GUSTAFSSON B.E., MIDVEDT T., NORMAN A., 1966. Isolated fecal microorganisms capable of $7\ \alpha$ -dehydroxylating bile acids. J. Exp. Med., 123, 413-431.

- GUTIERREZ J., WILLIAMS P.P., DAVIS R.E., WARWICK F.J., 1962. Lipid metabolism of Rumen Ciliates and Bacteria. 1. Uptake of fatty acids by Isotricha prostoma and Entodinium simplex. Appl. Microbiol., 10, 548.
- HARRISON F.A., LEAT W.M.F., 1970. Effect of bile and pancreatic juice on the absorption of long chain fatty acids in the sheep. Biochem. J., 118, 3P.
- HARRISON F.A., LEAT W.M.F., 1972. Absorption of palmitic, stearic and oleic acids in the sheep in the presence or absence of bile and/or pancreatic juice. J. Physiol., 225, 565-576.
- HARTMAN L., SHORLAND F.B., McDONALD I.R.C., 1954. Occurrence of trans-acids in animal fats. Nature, 174, 185-186.
- HARTMAN L., SHORLAND F.B., CLEVERLEY B., 1958. Occurrence of trans unsaturated acids in the fecal lipids of ruminants and non ruminants. Biochem. J., 69, 1-5.
- HARTMAN L., SHORLAND F.B., McDONALD I.R.C., 1955. The trans-unsaturated acids contents of fats of ruminants and non-ruminants. Biochem. J., 61, 603-607.
- HILL M.J., DRASAR B.S., 1968. Degradation of bile salts by human intestinal bacteria. J. Brit. Soc. Gastro. Gut., 9, 22-27.
- HOBSON P.N., MANN S.O., 1961. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. J. Gen. Microbiol., 25, 227-240.
- HOET P.P., JOOSENS J.V., EVRARD E., EYSEN H., DE SOMER P., 1963. Intestinal bacteria and fecal fats. In : "Biochemical problems of lipids". Frazer Ed. Elsevier Amsterdam, Londres, New-York, 1963, 73-83.
- HOFFMAN N.E., 1970. The relationships between uptake in vitro of oleic acid and micellar solubilization. Bioch. Biophys. Acta, 196, 193-203.
- HOFFMAN N.E., SIMMONDS W.J., MORGAN R.G.H., 1971. A comparison of absorption of free fatty-acids and α -glyceryl ether in the presence and absence of a micellar phase. Bioch. Biophys. Acta, 231, 487-495.
- HOFLUND S., HOLMBERG J., SELLMAN G., 1955. Investigations on fat digestion and fat metabolism in Ruminants. I.- Feeding unsaturated fats to dairy cows ; fat digestion in the Rumen. Cornell Vet., 45, 254.
- HOFLUND S., HOLMBERG J., SELLMAN G., 1956. Investigations on fat digestion and fat metabolism in ruminants. II.- Feeding unsaturated fats to dairy calves. Cornell Vet., 46, 51-52.
- HOFLUND S., 1956. Investigations on fat digestion and fat metabolism in Ruminants. III.- Influence of the Rumen flora on fat digestion by sheep. Cornell Vet., 46, 53-55.
- HOFMANN A.F., 1961. Micellar solubilization of fatty acids and monoglycerides in bile salt solutions. In : "The enzymes of lipid metabolism". Proceedings of the sixth International Conference on the Biochemistry of Lipids, Marseille, 1960. P. DESNUELLE, Editor, 159-171. Pergamon Press, Oxford, London, New-York, Paris.



HOFMANN A.F., 1963a. Further studies on the intraluminal phase of fat digestion : factors influencing the behaviour of fatty-acids in bile salt solutions. Résumé des communications du VIème Congrès de Nutrition, Edimbourg, p.501.

HOFMANN A., 1963b. The function of bile salts in fat absorption. The solvent properties of dilute micellar solutions of conjugated bile salts. *Biochem. J.*, 89, 57-68.

HOFMANN A.F., 1964. Thin layer chromatography of bile acids and their derivatives, In "Biochemical separations", A. JAMES and L. MORRIS, editors D.V.

HOFMANN A., BORGSTRÖM B., 1964. The intestinal phase of digestion in man. The lipid content of micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption. *J. Clin. Invest.*, 43, 247-257.

HOFMANN A.F., MOSBACH E.H., SWEeley C.C., 1964. Bile acid composition from germ-free rabbits. *Bioch. Biophys. Acta*, 176, 204-207.

HUNGATE R.E., 1966. The rumen and its microbes, New-York, London, Academic Press.

ISSELBACHER K.J., BUDZ D.M., 1963. Synthesis of lipoproteins by Rat intestinal mucosa, *Nature*, 200, 364-365.

JOHNS A.T., 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New-Zealand J. Sci. Tech.*, 35 (A), 262-269.

JOHNSTON J., BROWN J., 1962. The intestinal utilization of doubly labelled α -monopalmitin. *Biochim. Biophys. Acta*, 59, 500-501.

JONHSON R.B., PETERSON D.A., TOLBER B.M., 1960. Cellulose metabolism in the Rat. *J. Nutr.*, 72, 353-356.

KALLNER A., 1967. On the biosynthesis and metabolism of allodeoxycholic acid in Rat. *Acta chem. Scand.*, 21, 315-321.

KEMP P., DAWSON R.M.C., 1968. Isomerization of linolenic acid by rumen micro-organisms. *Biochem. J.*, 109, 477-478.

KEMP P., WHITE R.W., 1968. The biohydrogenation of linolenic and linoleic acids by bacteria isolated from an ovine rumen. *Biochem. J.*, 106, 55P.

KERN F., BORGSTRÖM B., 1965. The effect of a conjugated bile salt on oleic acid absorption in Rat. *Gastroenterology*, 49, 623-631.

KIM Y.S., SPRITZ N., BLUM A., TERZ Z., SCHERLOCK J., 1966. The role of altered bile acids metabolism in the steatorrhea of experimental blind loop. *J. Clin. Inv.*, 45, 956.

LEAT W.M.F., HARRISON F.A., 1967. Effect of bile and pancreatic juice on the intestinal lipids of the sheep. *Br. J. Nutr.*, 22, 237-246.

LEPKOVSKY S., FURUTA F., OZONE K., KOIKE T., 1966. The proteases, amylase, and lipase of the pancreas and intestinal contents of germ-free and conventional Rats. *Brit. J. Nutr.*, 20, 257.

- LOESCHE W.J., 1968. Accumulation of endogenous proteins in the caecum of germ-free Rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 129, 320-324.
- LUCKEY T.D., 1963. In : "Germ-free life and gnotobiology". Academic Press, New-York, London, p. 252.
- MATTSON F., VOLPENHEIN R., 1964. The digestion and absorption of triglycerides. *J. Biol. Chem.*, 239, 2772-2777
- MIDVEDT T., NORMAN A., 1968a. Parameters in 7 α -dehydroxylation of bile acids by anaerobic Lactobacilli. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 72, 313-329.
- MIDVEDT T., NORMAN A., 1968b. Anaerobic bile acid transforming microorganisms in rat intestinal content. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 72, 337-344.
- MIDVEDT T., NORMAN A., NYGAARD K., 1969. Bile acid transforming microorganisms in Rat with an intestinal blind segment. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 77, 162-166.
- NORMAN A., WIDSTROM A., 1964. Hydrolysis of conjugated bile acids by extracellular enzymes present in rat intestine contents. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 117, 442.
- OGIVILIE B.M., McCLYMONT G.L., SHORLAND F.B., 1961. Effect of duodenal administration of highly unsaturated fatty acids on composition of ruminant depôt fat. *Nature*, 190, 725-726.
- POLAN C.E., McNEILL J.J., TOVE S.B., 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bact.*, 88, 1056.
- RAIBAUD P., DICKINSON A.B., SACQUET E., CHARLIER H., MOCQUOT G., 1966. La microflore du tube digestif du Rat. *Ann. Inst. Pasteur*, 111, 193-210.
- RAO G.A., JOHNSTON J.M., 1966. Purification and properties of triglyceride-synthetase from the intestinal mucosa. *Biochim. Biophys. Acta*, 125, 465.
- REDDY B.S., PLEASANTS J.R., WOSTMANN B.S., 1969. Pancreatic enzymes in germ-free and conventional Rats fed chemically defined water soluble diet free from natural substrate. *J. Nutr.*, 97, 327-334.
- REISER R., 1951. Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant. *Fed. Proc.*, 10, 236.
- REISER R., REDDY H.G.R., 1956. The hydrogenation of dietary unsaturated fatty acids by the ruminant. *J. Am. oil. Chem. Soc.*, 33, 155-156.
- SABESIN S.M., ISSELBACHER K.J., 1965. Protein synthesis inhibition mechanism for the production of impaired fat absorption. *Science*, 147, 1149-1154.
- SACQUET E., 1968. Equipment design and management. Part. 1. General technique of maintaining germ-free animals. In : "The germ free animal in Research". Marie COATES Ed. Academic Press London and New-York, 1-22.
- SACQUET E., 1971. Flore microbienne du tractus digestif et nutrition chez *Rattus norvegicus*. Thèse Doctorat d'Etat, Fac. Sci. Université de Paris.

SACQUET E., GARNIER H., RAIBAUD P., EYSEN H., 1968. Etiologie bactérienne de la stéatorrhée observée chez le Rat porteur d'un cul-de-sac intestinal. Déconjugaison de l'acide taurocholique. C.R. Acad. Sci., Paris, 267, 2238-2240.

SACQUET E., GARNIER H., RAIBAUD P., 1970. Etude de la vitesse du transit gastro-intestinal des spores d'une souche thermophile stricte de "Bacillus subtilis" chez le Rat "holoxénique", le Rat "axénique", et le Rat caecectomisé. C.R. Soc. Biol., 164, 532-537.

SACQUET E., CHARLIER H., RAIBAUD P., DICKINSON A.B., EVRARD E., EYSEN H., 1966. Etiologie bactérienne de la stéatorrhée observée chez le Rat porteur d'un cul-de-sac intestinal. C.R. Acad. Sci., Paris, 262, 786-789.

SAUNDERS D., DAWSON A., 1962. Studies on the metabolism of glycerol by the small intestine in vitro and in vivo. Biochem. J., 82, 477-482.

SAVARY P., CONSTANTIN M.I., 1966. Sur la résorption des chaînes éruciques et leur incorporation dans les chylomicrons lymphatiques du Rat. Biochim. Biophys. Acta, 125, 118-128.

SAVARY P., CONSTANTIN M.I., DESNUELLE P., 1961. Sur la structure des triglycérides des chylomicrons lymphatiques du Rat. Biochim. Biophys. Acta, 48, 562-571.

SCRIBANTE P., FAVARGER P., 1954. Etude de la digestibilité de l'acide stéarique et de ses esters glycéridiques chez le Rat. Helv. Physiol. Acta, 12, 74-89.

SENIOR J.R., ISSELBACHER K.J., 1962. Direct esterification of monoglycérides with palmityl-CoA by intestinal subcellular fractions. J. Biol. Chem., 237, 1454.

SHIMADA K., BRICKNELL K.S., FINEGOLD S.M., 1969. Deconjugation of bile acids by intestinal bacteria : review of literature and additional studies. J. Inf. Dis., 119, 273-281.

SHORLAND F.B., 1955. In "Progress in the Chemistry of fats and other lipids" vol. 3. Ed. HOLMAN R.T., LUNDBERG W.O., MALKIN T., Pergamon Press, New-York.

SHORLAND F.B., WEENINK R.O., JOHNS A.T., 1955. Effect of the rumen on dietary fat. Nature, 174, 1129-1130.

SHORLAND F.B., WEENINK R.O., JOHNS A.T., McDONALD I.R.C., 1957. The effect of sheep rumen contents on unsaturated fatty acids. Bioch. J., 67, 328-333.

STEIN Y., TIETZ O., SHAPIRO B., 1957. Glyceride synthesis by Rat liver mitochondria. Bioch. Biophys. Acta, 26, 286-293.

STEMPFEL R.S., SEDBURY J.B., 1964. Studies with the hydroxy steroid dehydrogenases. A simplified method for the enzymatic estimation of 3 and 17 α -dehydroxysteroids. J. Clin. Endocr., 24, 367-372.

SUBBIAH M.T., KUKSIS A., 1968. Alkaline solvent systems for thin-layer chromatography of bile-acids. J. Lipid. Res., 9, 288-290.

- SUPPLEE N., 1960. The effect of antibiotic on the response of poults to dietary corn-oil. *Poult. Sci.*, 39, 227-229.
- SZYLIT O., 1971. Etude comparée de la dégradation de l'amidon dans les caeca du Poulet axénique et orthoxénique. *C.R. Acad. Sci.*, 273, 1132-1135.
- SZYLIT O., 1973. Les voies métaboliques de la dégradation de l'amidon dans le jabot de Gallus Gallus et leurs incidences nutritionnelles. Thèse Fac. Sci. Paris.
- TENNANT B., REINA-GUERRA M., MARROLD D., GOLDMAN M., 1969. Influence of microorganisms on intestinal absorption of oleic acid ¹³¹. I. Absorption by germ-free and conventionalized rats. *J. Nutr.*, 92, 389-392.
- THIEULIN C., 1968. Les divers facteurs influant sur l'utilisation digestive des matières grasses. *Ann. Nutr. Alim.*, 22, 245-258.
- THOMAS, CULBERTON, BEARD, 1934. *Amer. Soc. Animal Production Rec. Proc.* 27th Annual Meeting 1933-1934.
- THOMAS P.J., HSIA S.L., MATSCHINER J.T., DOIZY E.A.Jr., ELLIOT W.H., THAYER S. S.A., DOIZY E.A., 1964. Metabolism of lithocholic acid 24-¹⁴C in the Rat. *J. Biol. Chem.*, 239, 102.
- TOULLEC R., FLANZY J., RIGAUD J., 1968. Dosage des lipides des fèces. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 8, 281-289.
- TOVE S.G., MOCKRZE R.D., 1963. Effect of dietary and injected fat on the fatty acid composition of bovine depot fat and milk fat. *J. Dairy Sci.*, 46, 686.
- VODOVAR N., FLANZY J., 1966. Mécanisme de la pénétration et voie d'acheminement des graisses dans la cellule absorbante de l'intestin grêle du Porc. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 6, 315-355.
- WARD P.F.V., SCOTT T.W., DAWSON R.M.C., 1964. The hydrogenation of unsaturated fatty acids in the ovine digestive tract. *Biochem. J.*, 92, 60-68.
- WEENINCK R.O., 1956. Octadecadienoic acids of lamb caul fat. *Nature*, 178, 646-647.
- WEENINCK R.O., 1959. A note on the acetone-soluble lipids of forage grasses and clovers. *New-Zealand J. Sci.*, 2, 273-274.
- WEISS S.B., KENNEDY E.P., 1956. *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 3550.
- WEISS S.B., KENNEDY E.P., KIYASU J.Y., 1960. The enzymatic synthesis of triglycerides. *J. Biol. Chem.*, 235, 40-44.
- WERNER M., 1965. Vergleichende Bilanzuntersuchungen der Fettverdauung mit chemischen Methoden und radioaktiven lipiden. *Helv. med. Acta*, 32, 457-460.
- WHITE R.W., KEMP P., DAWSON R.M.C., 1970. Isolation of a rumen bacterium that hydrogenates oleic acid as well as linoleic acid and linolenic acid. *Biochem. J.*, 116, 767-768.
- WILDE P.F., DAWSON R.M.C., 1966. The biohydrogenation of linoleic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. *Biochem. J.*, 98, 469.

WILLIAMS P.P., GUTIERREZ J., DAVIS R.E., 1963. Lipid metabolism of rumen ciliates and bacteria. II.- Uptake of fatty acids and lipid analysis of Isotricha intestinalis and rumen bacteria with further information on Eutodinium simplex. Appl. microbiol., 11, 260.

WOOD R.D., BELL M.C., GRAINGER R.B., TEEKELL R.A., 1963. Metabolism of labelled linoleic-I-C¹⁴ Acid in the sheep rumen. J. Nutrition, 79, 62-68.

WOSTMANN B.S., BRUCKER-KARDOSS E., KNIGHT P.L. Jr., 1968. Cecal enlargement, cardiac output and O₂ consumption in germ-free Rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 128, 137-141.

WOSTMANN B.S., WIECH N.L., KUNG E., 1966. Catabolism and elimination of cholesterol in germ-free rats. J. Lip. Res., 7, 77.

WRIGHT D.E., 1959. Hydrogenation by rumen protozoa. Nature, 184, 875-876.

WRIGHT D.E., 1960. Hydrogenation of chloroplast lipids by rumen bacteria. Nature, 185, 546-547.

YOSHIDA T., PLEASANTS J.R., REDDY B.S., 1968. Efficiency of digestion in germ-free and conventional rabbits. Br. J. Nutr., 22, 723-737.

YOUNG R.J., GARRETT R.L., GRIFFITH M., 1963. Factors affecting the absorbability of fatty acids mixtures high in saturated fatty-acids. Poultr. Sci., 42, 1146-1154.

NOM DE L'ETUDIANT : DEMARNE Yves

NATURE DE LA THESE : DOCTEUR INGENIEUR

VU, APPROUVE

& PERMIS D'IMPRIMER

NANCY, le 6 janvier 1976

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I



J.R. HELLUY

